

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/US 98/02598

## Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
Although claims 19 and 20 are directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
2. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

## Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.  
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int. Application No.  
PCT/JP 98/02598

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	SCHWEIZER M. ET AL.: "Phylogenetic analysis of primate foamy virus by comparison of pol sequences" VIROLOGY, vol. 207, 1995, ORLANDO US, pages 577-582, XP002066888 see the whole document	1-4, 6-13, 18-20
A	--- RENNE R. ET AL.: "Genomic organisation and expression of simian foamy virus type 3 (SFV-3)" VIROLOGY, vol. 186, 1992, ORLANDO US, pages 597-608, XP002066889	1-4
Y	--- HIRATA R. ET AL.: "Transduction of hematopoietic cells by foamy virus vectors" BLOOD, vol. 88, no. 9, 1 November 1996, BROOKLINE, US, pages 3654-3661, XP002066890	14-17
A	--- RUSSELL D.W., MILLER A.D.: "Foamy virus vectors" JOURNAL OF VIROLOGY, vol. 70, no. 1, January 1996, BALTIMORE, US, pages 217-222, XP002066891 -----	6-13,18
Y		14-17
A		6-18

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

US 98/02598

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 6 C12N7/00 C12N15/86 A61K48/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 C12N C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	HAHN H. ET AL.: "Reactivity of primate sera to foamy virus Gag and Bet proteins" JOURNAL OF GENERAL VIROLOGY., vol. 75, October 1994, READING GB, pages 2635-2644, XP002066887 see abstract see page 2638 - page 2639 see figure 3	1-4
Y	DE 43 18 387 A (BAYER AG) 8 December 1994 see the whole document	1-4, 6-13, 18-20

-/-



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

### \* Special categories of cited documents :

- \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*E\* earlier document but published on or after the international filing date
- \*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

\*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

\*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

\*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

\*Z\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

3 June 1998

Date of mailing of the international search report

09. 07. 1998

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Panzica, G

SIMIAN FOAMY VIRUS PERCENT NUCLEOTIDE IDENTITY

	Case1	Case2	Case3	SFV 3 AGM	SFV BAB	SFV MAC	HFV	SFV CPZ	SFV PYG	SFV8 SPM
Case1	-	82.6	82.1	87.5	82.4	77.4	68.7	66.6	67.2	66.4
Case2	-	-	95.5	81.7	92.7	76.2	68.3	66.4	68.9	62.3
Case3	-	-	-	82.1	93.9	76.9	67.5	66.5	69.3	62.3

5/5

FIG. 5



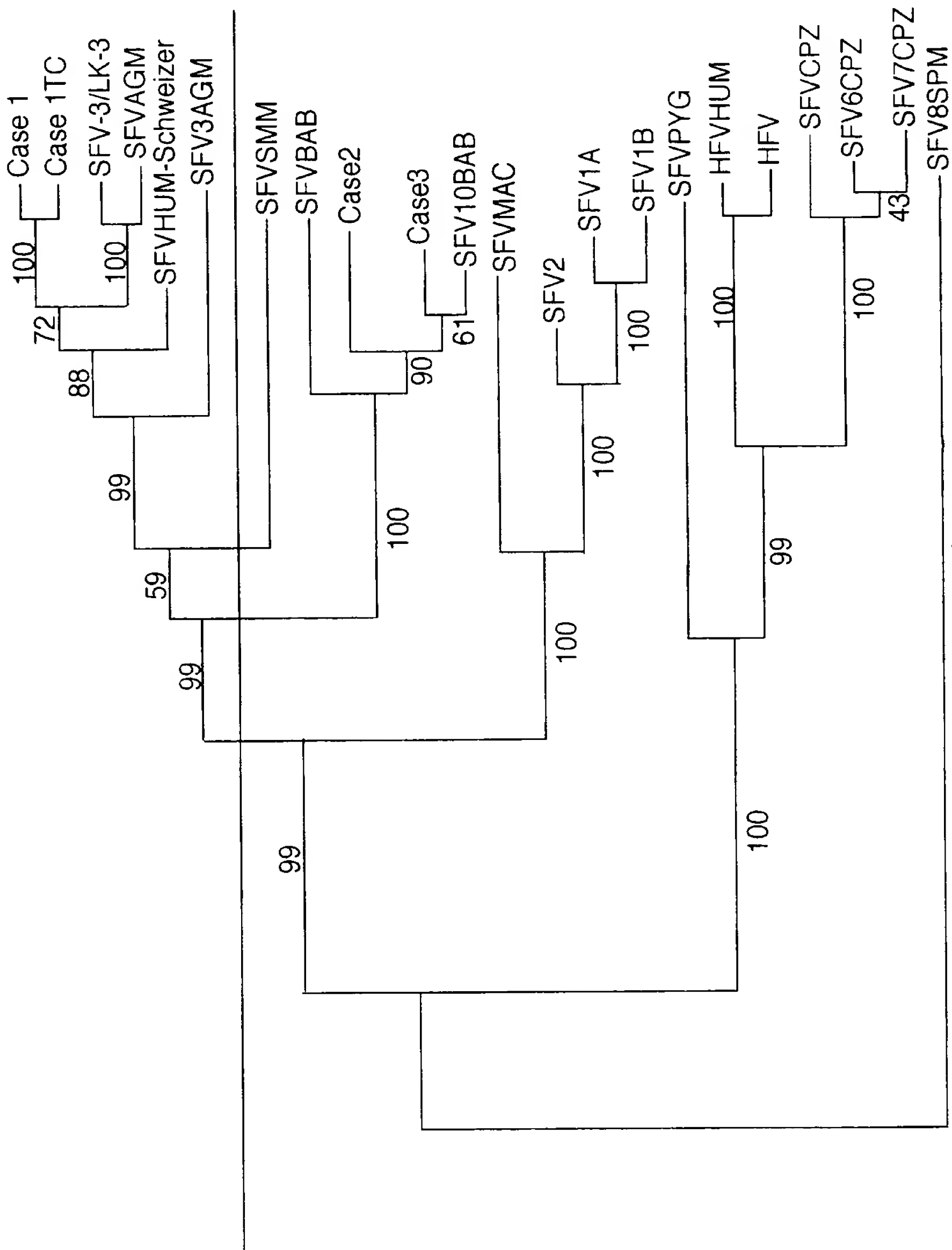


FIG. 4

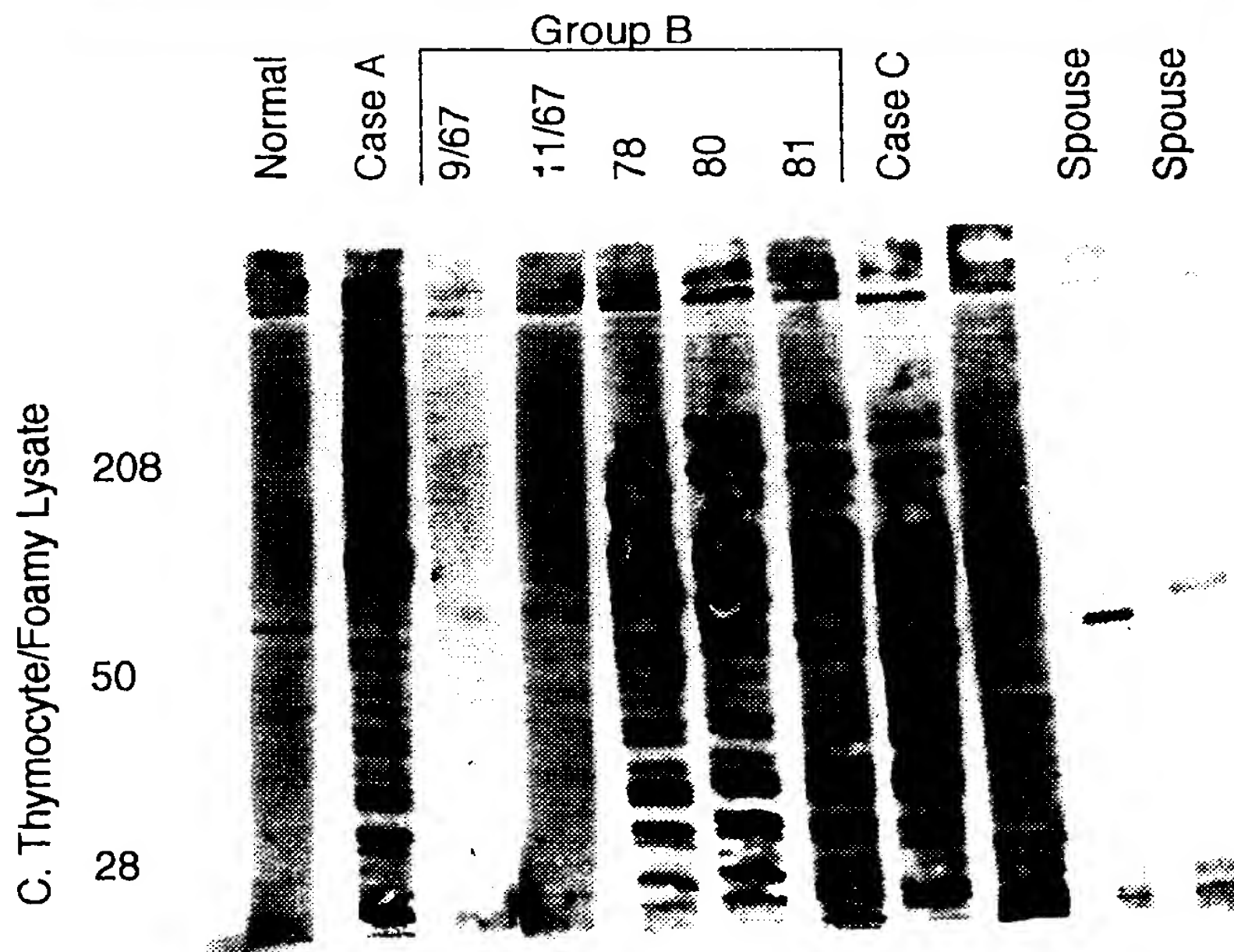
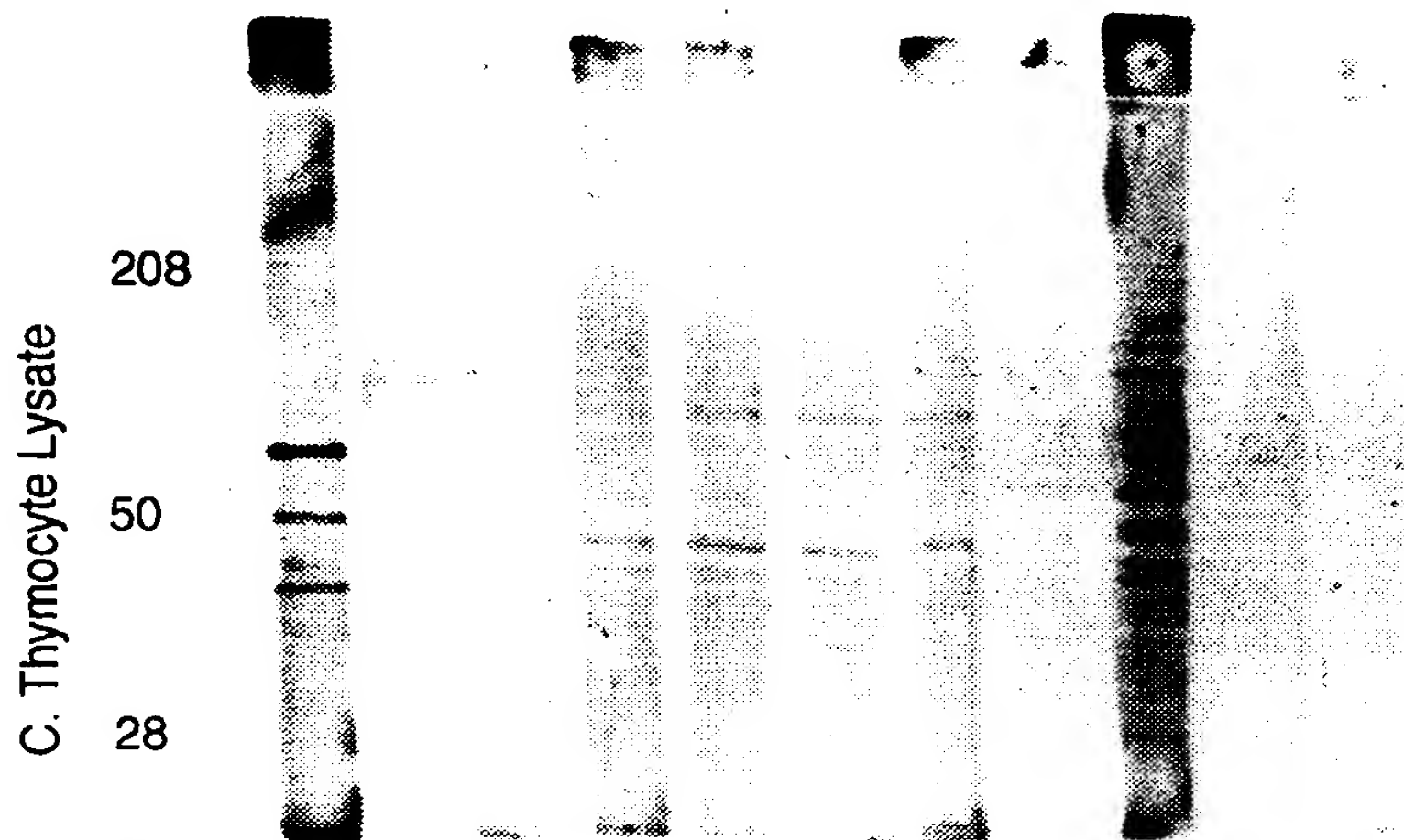


FIG. 3

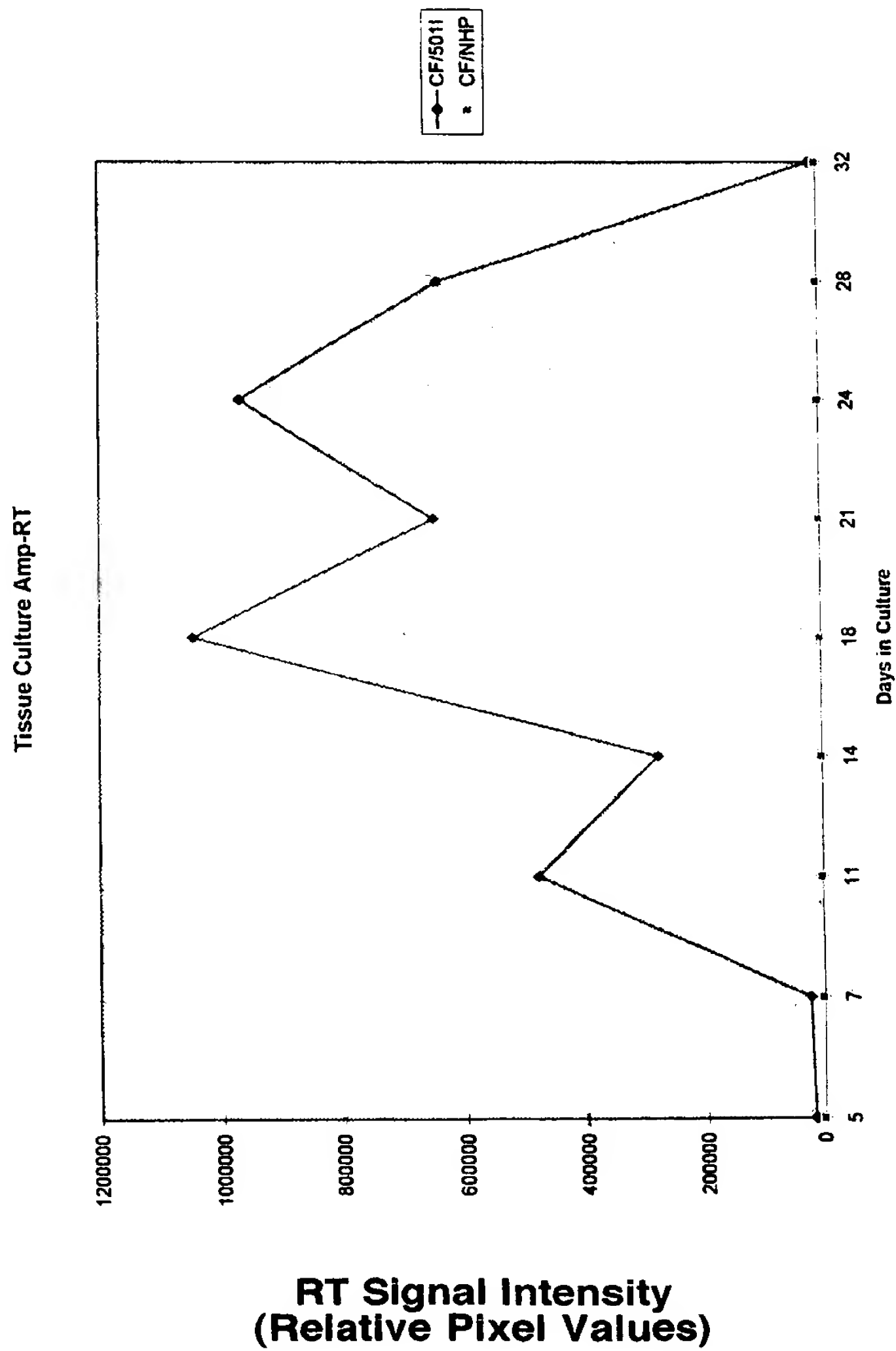


Fig. 2

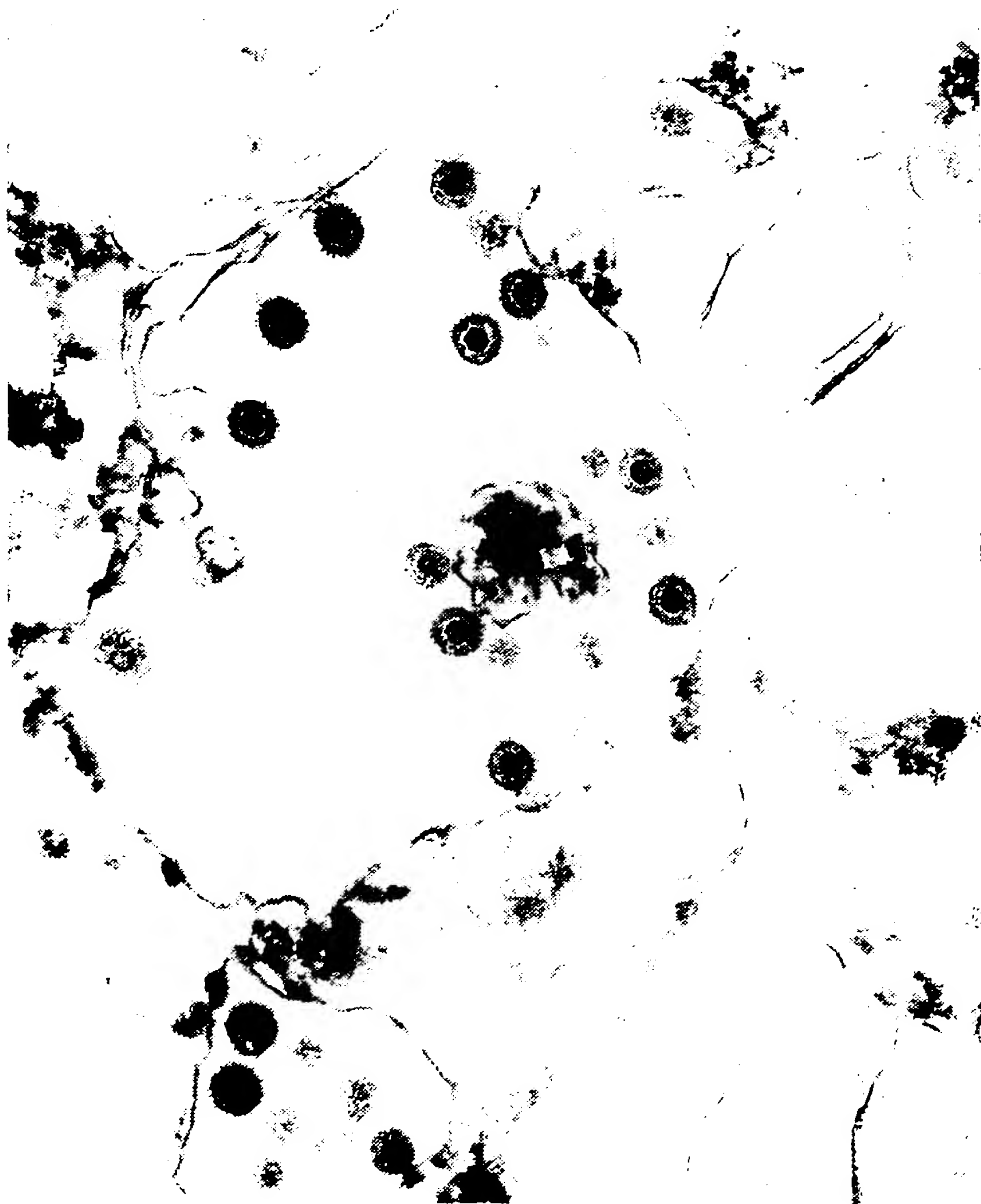


Fig. 1

SUBSTITUTE SHEET (RULE 26)

12. The vector of Claim 6 wherein the vector is a eucaryotic vector.

13. The vector of Claim 6 wherein the vector is a viral vector.

14. The vector of Claim 6 wherein the sequence is derived from Seq ID. 1.

15. The vector of Claim 6 wherein the sequence is derived from Seq ID. 2.

16. The vector of Claim 6 wherein the sequence is derived from Seq ID. 3.

17. The vector of Claim 6 wherein the sequence is derived from Seq ID. 4.

18. The vector of Claim 6 wherein the vector is a probe.

19. A method of treating conditions in humans caused by rapidly dividing cells, comprising administration of a spumavirus isolated from humans.

20. A method of gene therapy, comprising administration of a spumavirus containing novel genes to a human.

## CLAIMS

What is claimed:

1. An isolated spumavirus cross-reactive with SFV-3  
5 antibodies.
2. The spumavirus of Claim 1, wherein the spumavirus is  
isolated from a human.
- 10 3. The spumavirus of Claim 1, wherein the spumavirus is  
capable of infecting humans.
4. The spumavirus of Claim 1, wherein the spumavirus is not  
readily transmitted from human to human.
- 15 5. The spumavirus of Claim 1, the spumavirus having ATCC  
Deposit Nos. \_\_\_\_\_.
6. A vector comprising a sequence from an isolated spumavirus  
20 cross-reactive with SFV-3 antibodies.
7. The spumavirus of Claim 6, wherein the spumavirus is  
isolated from a human.
- 25 8. The spumavirus of Claim 6, wherein the spumavirus is  
capable of infecting humans.
9. The spumavirus of Claim 6, wherein the spumavirus is not  
readily transmitted from human to human.
- 30 10. The spumavirus of Claim 6 having ATCC Deposit Nos.  
\_\_\_\_\_.
11. The vector of Claim 6 wherein the vector is a procaryotic  
35 vector.

GTAGTACATA CTTGTAGAAG GCATTACATG AGATGTTTGT CTGCCCTTCC TAGCAATGGA 1620

GAACCTCTCA AACCTAGAGT CCGGGCTAAT CCTGTCCGAA GATATCGAGA GAAGCAAGAG 1680

TTCGTTGCGA CTAGGCCTAA ACGCTCCAGA TGGGGTGTGG CCCCTAGCGC AGACTCCCAT 1740

ACTTCCAGTG GTGACGCCAT GGCCCTTATG CCAGGACCAT GCGGCCCTT CGGTATGGAC 1800

ACTCCTGGTT GCTTACTGGA AGGGATACAA GGATCAGGGC CTGGAACCTC CGAAATGGCT 1860

GTGGCAATGT CAGGAGGACC TTTCTGGGAA GAAGTGTACC GGGACTCAAT TCCTGGTGCC 1920

CCCACTGGGT CTAGTGAAAA TTAGGCTTTA TCAAAATCTA ACTGTTGTAA ATGTTTGTGG 1980

ATCTGTTGAC CCATGGGAAA ATGAGAATCC CACTAGAGGT CGCAGAGGGC CTATGCATAG 2040

ATATGATTGT AGAATTGCTT GTGATCCAAG CTATTGCTTT AAGGCTATTT GGGAAGGAAA 2100

CTTTTGGGAC AAAAAAAAAA GGATCAGGCA TGCTGGCTAG TTCATCTGAA AGAAGGACAT 2160

AAATTTGGTG CAGATGAGTT ATCTTCTGGG GATCTTAAAA TATTAGCAGA ATCTAGACCT 2220

TATCCATATG GATCTATTGG TCATTGTGCT ATGCTTCAAT ATGCAGTACA AGTTAAAATG 2280

AGAGTTGATA GAGCTCCTTT GACCTCAAAG GTGAGAGCTA TTAAAGCTTT GCACTATCAT 2340

CGCTGGAATA TTTGTCAGCT GGAAAATCCT GCCATAGGAG AAGGATTCAG TCCCTCTGGT 2400

AATACACA 2408

TGTCACCTGCT GAAAAGGTAA AGGAACCATA TATTCAAGTG TCAGCTTTAA AAAATGGAAG 540

CTATTTGGTT CTAACCAGTA GAACAGATTG CTCAATACCA GCATATGTTT CCAGCATTGT 600

AACTGTGAAC GAAACAGTTA AGTGTTTTGG GGTGAGTTT CATAAACCAC TATACTCAGA 660

AAGTAAAGTC AGCTTTGAAC CACAAGTTCC ACATCTGAAA CTACGCTTGC CACATCTGGT 720

TGGGATTATT GCAAGTCTTC AAAATTTGGA AATTGAAGTA ACNAGCACCC AAGAGAGTAT 780

ANAAGATCAG ATTGAAAGAG TTCAATCACA GOTTCTTCGG CTGGACATTC ACGAGGGAGA 840

CTTTCCTGCT TGGATTCAAC AACTTGCTTC TGCAACCAAG GACGTCTGGC CTGCAGCTGC 900

TAAAGCTCTT CAAGGCATAG GTAACTTTTT ATCTAATACT GCCCAGGGAA TATTTGGAAC 960

TGCTGTAAGT ATTCTATCCT ATGCCAAGCC TATTCCTATA GGAATAGGTG TTATACTTTT 1020

GATTGCATTC TTGTTTAAGA TTGTATCATG GCTTCCTGGG AAGAAGAAAA AGAACTAGGA 1080

CATCTGCATC TTCCAGAAGA CGATCCTCTG CCCAATTTAG ATGTGCTCCT GGGTCTTGAT 1140

CATATGGAAT CCAATGAAGG ACCTGATCAA AATCCAGGAG CTGAAAAGAT CTACATTCAA 1200

CTCCAAGCAG TCCCAGGGGA AGCCTCAGAG AAAACTTACA AATTTGGATA TGAAGACAAA 1260

GAGGCACAAA ATCCTGACTT AAAAATGAGA AATTGGGTTC CTAACCCCGA CAAAATGAGT 1320

AAGTGGGCCT GTGCAAGGCT TATTCTTTGT GGACTTTATA ATGCAAAAAA GGCTGGAGAA 1380

CTCTTGGCTA TGGACTATAA TGTTCATGG GAACAATCAA AAGAAGACCC AGGATACTTT 1440

GAAGTGGAAAT ATCACTGTAA AATGTGCATG ACTGTTATTC ATGAACCTAT GCCTATCCAA 1500

TATGAIGAAA AACTGGATT ATGGCTAAAA ATGGGTCCCC TTAGGGGAGA TATAGGATCT 1560



## (2) INFORMATION FOR SEQ ID NO: 4:

## (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

(A) LENGTH: 2408 base pairs

(B) TYPE: nucleic acid

(C) STRANDEDNESS: single

(D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: DNA (genomic)

(iii) HYPOTHETICAL: NO

(iv) ANTI-SENSE: NO

## (xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO: 4:

AAGGGGATCT TGAGCAATCC AACATGTGCA TACCCACTTG AATCATCTTA AAACCATGTT	60
ACTAATGAGG AAGATTGACT GGACTTTTAT TAAGAGTGAT TGGATTAAAG AACAACTTCA	120
GAAAACTGAA GATGAAATGA AGATTATTAG AAGAACAGCT AAAAGTTTAG TATATTATGT	180
GACTCAAACA TCATCTTCCA CTACAGCAAC ATCATGGGAA ATTGGAATTT ATTATGAAAT	240
AACTATACCA AAACATATTT ATTTGAATAA TTGGCAAGTT GTTAACATAG GTCATCTGAT	300
TGAGTCAGCT GGTCATTIGA CCTTAATAAG GGTAAACAT CCTTATGAAG ACTTTAATAA	360
AGAATGCACA TATGAACAAT ATTTACATCT TGAAGACTGC ATATCTCAGG ATTATGTGAT	420
TTGTGACACG GTACAAATAT TGTCACCATG TGGAAACTCA ACAGTAACCA GTGACTGCCC	480

TTAGTTTCAC TTAAAGTTAA GTTAGGAATA AGTTCCATAT AATCCTAAGG GAGTATGTGG 600

ACCTTCTTGT TAGGAAATAG TTAAAGATAG TCCACAGCTC CCTTCTTTTT GAGTTCTAGT 660

CTTTGTTAAG TTTGTTGGCT CATAACAGATA AAGTGCTCAT TAAACAGGAA ACCGCAACCG 720

GGTAAAGGTT AGCACAGTAA ATTAAGCTAG CAGTTACTCA AGAGCCCGGT AAGCATTCAA 780

GTAGTTCGAA TCCCTTTAAT GCTGACGGAT TGCTCTTTAG TGAGGTGATG TAATCTGTTT 840

TTGCAATCTG AAATGTGTGT TTGCACAGGA AGTTGTACAA GAAAGGGAAT GGCTAAACTT 900

GTTACAGTTC GAACAAACAT TTAGCAATTT CCTTTGCTTT TGGAGTTCGA GCCTTGTA CT 960

TATACTTTGA GCATATGTAT TGTAACACCT AAGTATGGAA AAATCTCCAA GTATGAGTCA 1020

CGAGATGCTT GGCTCACTGC GTTGGACGAC TGGAAAGAAG CTTCAACAGT CGGGACAGCA 1080

TCTCGAAGAA GGCCTCCGGA ATGAAAGAGT GAAAAATGAA GTCTCCTCAT TCAGAGAGCC 1140

TTCTTTTAGA ATTCAGGCA GAATAGAGTT TCCAATAGAA TAACTTTTG TATTAGCAGA 1200

TAGATAGGAT ATATAATCTC TGCTTTAGAT TGTACGGGAG CTCACCACTA CTCGCTGCGT 1260

CGAGAGTGTT CGAGTCTCTC CAGGCTTGGT AAGATATAAA CTTTGGTATT CTCTGTATTC 1320

TTATGATCCA ATATTACTCT GCTTATAGAT TGTAATGGGC AATGGCAATG CTTTATCAAT 1380

GAATGATTTT ATGGTGAATT AAGTTCATAT ATGTTTTAAG AAGTTTAACA ATAAACCGAC 1440

TTAATTCGAG AACCAGATTT ATTAGTATTG TCTCTTTCTA TACTTTAAGT AAAGTGAAAG 1500

GAGTTGTATA TTAGCCTTGC TTATAAGAGC CATCTAGTGG TATAAGTGTG TACTACACTT 1560

ATCTAAA 1567

## (2) INFORMATION FOR SEQ ID NO: 3:

## (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

- (A) LENGTH: 1567 base pairs
- (B) TYPE: nucleic acid
- (C) STRANDEDNESS: single
- (D) TOPOLOGY: linear

## (ii) MOLECULE TYPE: DNA (genomic)

## (iii) HYPOTHETICAL: NO

## (iv) ANTI-SENSE: NO

## (xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO: 3:

TTCCCAATAA ACATCATCCT GGGTGGACTA GACATCTTAC TAAATTCAAG ATATCTAGAT	60
TCTCCACTCC TGCTGATGTC CAGAAAATTG TGGATGAGCT TCTCCCTAGA GGAGCAAGCA	120
TTGTAATGCC TGATGGAACA AAGTATCCAA GTACCAGAAA AGTGCACTTA GTCAATGAAG	180
GAACCCTTGT AGAATACCAA GCCAAATGTA AGGAGATAGA GGAAAAGTAC GGAGGATGCT	240
TTTCTACAGA TAGTGATGAT GACAGTGATG ATTACTCTGA GGATACTCCA GAAACTGAAA	300
CCACTGATGT GGAATAGAGT ACAGTGTTAA GGATTCACAT AATCTGCCTA GCAACTGCTT	360
ATGCTTAAGA ATGAATCAGT ATATTGTTTA GGAATAAGTT ATAGTTTATA AGAAGTTAAT	420
CCTTAGGGAG TATTGGTGG AAATGACTGA GTGACATGAA GTTTATTCAC CATACTCTCA	480
ATAGGAGCCA CTAGTTGAGC CTGTGCGTTC AAATCCATGC TCAGCTTAAG TGACTCCCTT	540

## (2) INFORMATION FOR SEQ ID NO: 2:

## (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

- (A) LENGTH: 423 base pairs
- (B) TYPE: nucleic acid
- (C) STRANDEDNESS: single
- (D) TOPOLOGY: linear

## (ii) MOLECULE TYPE: DNA (genomic)

## (iii) HYPOTHETICAL: NO

## (iv) ANTI-SENSE: NO

## (xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO: 2:

```
TTACTACAAG GACAATATCC AAAAGGTTTT CCAAAACAAT ATCAATATGA ACTTAATGAA      60
GGACAAGTTA TAGTAACTCG TCCTAATGGA CAAAGAATTA TTCCTCCAAA ATCAGACAGG      120
CCTCAAATTA TTTTGCAAGC ACATAATATT GCACATACAG GAAGAGATTC AACCTTTCTT      180
AAGGTCTCTT CCAAGTATTG GTGGCCAAAT CTTAGAAAGG ATGTGGTTAA AGTTATCAGA      240
CAATGTAAGC AATGTCTGGT CACAAATGCA GCTACCTTAG CTGCGCCTCC AATACTGAGG      300
CCTGAAAGAC CTGTAAAGCC TTTTGATAAA TTTTGTGTTG ACTATATTGG CCCTTTACCC      360
CCTTCTAATA GGTACTTACA TGTCTTGTA GTAGTCGATG GTATGACTGG ATTTGTATGG      420
TTA                                          423
```

(iii) HYPOTHETICAL: NO

(iv) ANTI-SENSE: NO

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO: 1:

TTACTACAAG GACAATATCC AAAAGGTTTT CCAAAACAAT ATCAATATGA ACTTAATGAA	60
GGACAAGTTA TAGTAACTCG TCCTAATGGA CAAAGAATTA TTCCTCCAAA ATCAGACAGG	120
CCTCAAATTA TTTTGCAAGC ACATAATATT GCACATACAG GAAGAGATTC AACCTTTCTT	180
AAGGTCTCTT CCAAGTATTG GTGGCCAAAT CTTAGAAAGG ATGTGGTTAA AGTTATCAGA	240
CAATGTAAGC AATGTCTGGT CACAAATGCA GCTACCTTAG CTGCGCCTCC AATACTGAGG	300
CCTGAAAGAC CTGTAAAGCC TTTTGATAAA TTTTTTGTTG ACTATATTGG CCCTTTACCC	360
CCTTCTAATG GGTACTTACA TGTCCTTGTA GTAGTCGATG GTATGACTGG ATTTGTATGG	420
TTA	423

## SEQUENCE LISTING

## (1) GENERAL INFORMATION:

## (i) APPLICANT:

- (A) NAME: Centers for Disease Control
- (B) STREET: 1600 Clifton Road
- (C) CITY: Atlanta
- (D) STATE: Georgia
- (E) COUNTRY: USA
- (F) POSTAL CODE (ZIP): 30033
- (G) TELEPHONE: 404-639-1024
- (H) TELEFAX: 404-639-1174

(ii) TITLE OF INVENTION: New Retrovirus Isolated from Humans

(iii) NUMBER OF SEQUENCES: 4

## (iv) COMPUTER READABLE FORM:

- (A) MEDIUM TYPE: Floppy disk
- (B) COMPUTER: IBM PC compatible
- (C) OPERATING SYSTEM: PC-DOS/MS-DOS
- (D) SOFTWARE: PatentIn Release #1.0, Version #1.30 (EPO)

## (2) INFORMATION FOR SEQ ID NO: 1:

## (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

- (A) LENGTH: 423 base pairs
- (B) TYPE: nucleic acid
- (C) STRANDEDNESS: single
- (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: DNA (genomic)

At day 5, amp-reverse transcriptase testing showed a slightly positive signal in the canine thymocyte culture. The amp-reverse transcriptase activity increased over time. (See Figure 2).

The activity in control Cf2Th cells that were treated as above, except for exposure to normal PBLs instead of infected PBLs, was shown by the lower line that overlaps the baseline. There was no amp-reverse transcriptase activity inherently in these Cf2Th cells, providing evidence that there was no contamination by a retrovirus or spumavirus by the tissue culture cells.

### Example 7

At the peak of amp-reverse transcriptase activity as described in Example 5, cell-free supernatants were transferred to fresh Cf2Th growing at  $2 \times 10^5$  cells/mL. At day 4 in the new culture, cytopathic effects and syncytia was observed. Transmission electron microscopy showed viral particles in and around the cells (See Figure 1). Viral particles were isolated from these cultures and were stored at the Centers for Disease Control and will be deposited at the ATCC.

The Cf2Th cells were obtained from the in-house cell culture facility of the Centers for Disease Control, but these cells can also be obtained from the American Type Culture Collection (Rockville, MD). See Mergia et al., et al., "Cell tropism of the simian foamy virus type 1 (SFV-1)," J. Med. Primatol. 1996:25:2-7, for use of these cells.

Having thus described the invention, numerous changes and modifications thereof will be readily apparent to those having ordinary skill in the art, without departing from the spirit or scope of the invention.

#### Example 4

##### *Western Blot Analysis*

The sera from the three cases was analyzed by western blot analysis against whole cell lysates from Cf2Th cells infected by cell free supernatants from Cf2Th cells infected by a Case's PBLs. As shown in Figure 3, Case A, Case B and Case C all show the characteristic gag proteins associated with the spumavirus. It is interesting to note that in Case B, Case B converted from negative to positive between 1967 and 1978. In addition, spouses of two of the Cases were negative.

#### Example 5

##### *Simian Foamy Virus Isolation*

Peripheral blood lymphocytes (PBLs) were isolated from Cases A, B and C and were cultured with IL-2 for 48 hours, in RPI media with 10% fetal Calf serum, and penn-strep antibiotics. After 48 hours, the PBLs were added to the Cf2Th cells and co-cultured for 2-4 weeks. The cells were in DMEM supplemented with 2% nonessential amino acids, 20% fetal calf serum, and pen-strep antibiotics. 1 mL supernatants were collected from the cell cultures every 3 to 4 days and tested for amp-reverse transcriptase. Procedures for PBL treatment, culturing of Cf2Th cells and amp reverse transcriptase activity were procedures known to those in the art. For example, see Heneine, W., et al. "Detection of reverse transcriptase by a highly sensitive assay in sera from persons infected with HIV-1." (1995). J. infectious Diseases, 171:1201-6.

#### Example 6

Because of the positive amp-reverse transcriptase activity from cells from Case A, peripheral blood lymphocytes from Case A were cultured with IL-2 for 48 hours prior to addition to canine thymocytes (Cf2Th), human lung fibroblasts, and normal human peripheral blood lymphocytes. Supernatants were collected every 3 to 4 days and tested for amp-reverse transcriptase activity. Each time the 1 mL sample of supernatant was taken for amp-reverse transcriptase activity, a 5 mL sample of supernatant was taken and frozen at -80 ° C in order to preserve a sample of the virus producing the amp-reverse transcriptase activity.



## Example 2

### *Case B*

Case B is a research scientist employed for three decades working with biologic specimens from non-human primates. Case B rarely reported injuries involving non-human primate blood, body fluids, or unfixed tissue, but did report an injury in 1970 when an unused needle was stuck through a glove that was potentially contaminated with baboon body fluids; and a 1972 cut inflicted by a broken capillary tube containing chimpanzee blood. Case B is in good health. Case B has been in a monogamous sexual relationship without use of barrier contraceptives or spermicides for over 20 years. Case B's spouse is negative for SFV-like infection by both serologic and PCR testing. Analysis of two serum specimens from Case B archived serially in 1967 were negative; sera archived in 1978 and subsequently were consistently seropositive. See Figure 3, lanes 3 and 4 are the 1967 sera, lane 5 is sera from 1978, lane 6 is sera from 1980, lane 7 is sera from 1981. The sera of Case B's spouse is shown in lane 10.

## Example 3

### *Case C*

Case C is an animal care supervisor who has worked with non-human primates for more than 3 decades. Case C recalls multiple minor injuries and mucocutaneous exposures to non-human primate blood, body fluids, or unfixed tissues. Case C reported a severe baboon bite around 1980 that required multiple stitches of an arm and hand. Case C is in good health except for type II diabetes mellitus. Case C has been in a monogamous sexual relationship for nearly three decades, during which barrier methods of contraception have not been employed and spermicides were used for no more than a 6 month period. Case C's spouse is negative for SFV-like infection by both serologic and PCR testing. Retrospective analysis of sera archived from Case C in 1988 showed the sera to have antibodies to SFV. See Figure 3, lane 8 is Case C's sera from 1988, and lane 11 is sera from the spouse of Case C.

spumavirus from persons exposed to nonhuman primates. The virus does not appear to cause disease and does not appear not transmitted to close household contacts or sexual contacts. This belief is supported by the epidemiology data, the PCR and sequencing data and the serology data.

5           The isolate from Case A, SFVHu-1, was deposited with the ATCC under the Budapest Treaty on February 5, 1998, and was assigned ATCC no. \_\_\_\_\_.

10           The present invention is further described by the examples which follow. Such examples, however, are not to be construed as limiting in any way either the spirit or scope of the present invention. In the examples, all parts are parts by weight unless stated otherwise.

### Example 1

#### *Case A*

15           Case A has intermittently been employed as a caretaker for non-human primates for twenty years between 1961 and 1997. Case A recalled multiple minor injuries and mucocutaneous exposures to non-human primate blood, body fluids, or fresh tissue. In addition, Case A was twice bitten by African green monkeys in the 1960s or early 70s. These injuries were  
20           severe enough to require 7-10 stitches each. Case A is single and in good health. No sera collected from Case A prior to 1995 or from sexual partners are currently available for testing. Retrospective analysis of sera archived from Case A in 1995 showed the sera to have antibodies to SFV. (See Figure 3, lane 2).

25           The western blot of Figure 3 shows whole cell lysate from Cf2Th cells infected with the spumavirus of the present invention tested in each individual lane with different antisera. In Figure 3, particular viral proteins that show infection are the proteins with molecular weight of approximately 70-80 Daltons (p70 gag protein) and the proteins at approximately 130-140  
30           Daltons (an envelope protein). The western blot of Figure 3 shows whole cell lysate from Cf2Th cells infected with the spumavirus of the present invention. These proteins are not detectable in the western blot of Figure 3 by normal sera, (lane 1) but are detectable by antisera from Case A.

and are caused in part by the rapid growth of blood vessels. Another such condition is cancer or tumor growth. Cancer or tumors include both solid tumors and other types. Infection with the virus of the present invention, which causes no disease and does not effect the host systemically, is an improvement over currently known treatments that involved systemically administered agents. Such chemotherapeutic agents kill rapidly dividing cells but also cause trauma to the entire person. The dosages of such chemotherapeutic agents must be titrated between killing the cancer and killing the patient.

In contrast, treatments of cancer with the present invention are not as harmful to the patient. The virus can either be administered systemically or injected *in situ* into the tumor. The virus will only replicate in rapidly dividing cells and will not effect cells that are not dividing. The infected cells are killed and tumor growth is stopped. The virus may be administered in one treatment or in a series of treatments.

The SFVHu-1 of the present invention can be recombinantly modified to be selective for cellular receptors on the tumor to make the virus even more specifically targeted to just those cells. Additionally, the virus may have altered promoter regions that can be selectively activated to cause a productive infection. The combination of different levels of control of the virus, both natural and recombinantly produced, are contemplated in the present invention. A virus could be made specific for attachment to only certain types of cellular receptors, for those cells that are dividing, and will only undergo replication if another exogenous promoter factor is present. Viral infection by two or more individually defective viruses, that require factors or promoters supplied by other foamy viruses or any type of virus, could provide for many levels of control of infection or treatment of specific conditions.

The virus may be administered to the host, for cancer treatment, gene therapy or vaccination by any methods known to those skilled in the art. Such methods include but are not limited to injection, inhalation, ingestion, topical administration and implantation. The virus may be killed or live, depending on the treatment considered.

The inventors of the present invention believe that the viruses of the present invention, comprising the isolates from Cases A, B, and C, and particularly Case A, are the first definitive isolation of an SFV-3-like

of the cancer cell marker is incorporated into the foamy virus RNA and after infection with the virus, the expressed gene product stimulates the immune system. The patient's immune system is used to remove the cancerous cells, obviating the need for chemotherapeutic methods.

5           The antibodies of the present invention can be used to detect the presence of the virus or viral particles of the present invention. These antibodies can be used in diagnostic or screening kits to assess the present of the virus. Additionally, the antibodies can be used to screen organs from nonhuman primates that may be used in humans. Detection of the presence  
10 of a virus that is transmitted from nonhuman primates to humans would be crucial in providing virus-free organs for transplantation.

          The virus of the present invention can be used for the treatment of conditions due to the presence of rapidly dividing cells. In a host, the ability of SFVHu-1 to productively infect dividing cells provides an excellent  
15 treatment for conditions due to the presence of rapidly dividing cells. For example, a person with disease due to rapidly dividing cells, including but limited to cancer or any known angiogenic condition, could be infected with SFVHu-1. Such virus may or may not carry other, exogenous genes for other effects in the host. Because SFVHu-1 does not cause disease in the  
20 host and there is no transmission of the virus to contacts with the host, only the person with the condition due to rapidly dividing cells will be treated. In addition, only the rapidly dividing cells of that host person will be productively infected by SFVHu-1. Other cells in the body may be infected but will not be killed because the infection in nondividing cells is not  
25 productive. The virus will productively infect the rapidly dividing cells and kill them. For example, a person with a fast growing tumor would be infected with SFVHu-1 and the cells of the tumor would be destroyed by the virus. Additionally, the virus may be given to a person prior to the person developing a condition caused by dividing cells, and when the cells begin  
30 dividing, the virus would then undergo a productive infection and kill the cells. This therapy may halt or inhibit such conditions as leukemia or angiogenesis dependent diseases such as macular degeneration.

          Such treatment with SFVHu-1 could be used for any condition in which rapidly dividing cells provide an aspect of the pathology of the  
35 condition. One such condition is the presence of uncontrolled angiogenesis within the body. Angiogenesis dependent diseases are well known in the art

defect. Instead of being defective, the gene have been deleted, thus replacement therapy would provide a copy of the gene for use by the cell. The administered normal genes can either insert into a chromosome or may be present as extracellular DNA and can be used to produce normal RNA, leading to production of the normal gene product. In this fashion gene defects and deficiencies in the production of a gene product may be corrected. Still further gene therapy has the potential to augment the normal genetic complement of a cell. For example, it has been proposed that one way to combat HIV is to introduce into an infected person's T cells a gene that makes the cells resistant to HIV infection. This form of gene therapy is sometimes called "intracellular immunization." Genetic material such as a polynucleotide sequence may be administered to a mammal in a viral vector to elicit an immune response against the gene product of the administered nucleic acid sequence. Such gene vaccines elicit an immune response in the following manner. First, the viral vector containing the nucleic acid sequence is administered to a human or animal. Next, the administered sequence is expressed to form a gene product within the human or animal. The gene product inside the human or animal is recognized as foreign material and the immune system of the human or animal mounts an immunological response against the gene product. The virus of the present invention may be used as a viral vector to provide the foreign nucleic acid sequences to the intracellular metabolic processes.

Additionally, gene therapy may be used as a method of delivering drugs *in vivo*. For example, if genes that code for therapeutic compounds can be delivered to endothelial cells, the gene products would have facilitated access to the blood stream. Additionally, cells could be infected with a retroviral vector such as the present invention carrying nucleic acid sequences coding for pharmaceutical agents that prevent infection from occurring in the retrovirally infected cells.

The novel spumavirus of the present invention can also be used a safe and effective vaccine agent. Genetic sequences for immunogenic proteins from a variety of infectious agents can be incorporated into the foamy virus RNA. Once inside a cell, the gene product is expressed and releases the immunizing peptide to the body's immune system. In another method, the virus of the present invention can be used to immunize the body against cell markers found on cancer or tumor cells. The genetic sequence

the presence of this and related viruses for xenotransplantation. In addition, the novel spumavirus of the present invention can be used as a reagent in pathogenicity studies of these and related viruses. Moreover, the sequences of the novel spumavirus of the present invention can be used as probes to detect virus in biological samples. Vectors include but are not limited to procaryotic, eucaryotic and viral vectors.

Many new and potentially useful technologies are being developed which use viral vectors and may form the basis of future medical cures and therapies. Examples of such technologies include, but are not limited to, gene replacement, antisense gene therapy, *in situ* drug delivery, treatment of cancer or infectious agents, and vaccine therapy. However, to be successful, these technologies require an effective means for the delivery of the genetic information across cellular membranes.

The recent advent of technology, and advances in the understanding of the structure and function of many genes makes it possible to selectively turn off or modify the activity of a given gene. Alteration of gene activity can be accomplished many ways. For example, oligonucleotides that are complementary to certain gene messages or viral sequences, known as "antisense" compounds, have been shown to have an inhibitory effect against viruses. By creating an antisense compound that hybridizes with the targeted RNA message of cells or viruses the translation of the message into protein can be interrupted or prevented. In this fashion gene activity can be modulated.

The ability to deactivate specific genes provides great therapeutic benefits. For example, it is theoretically possible to fight viral diseases with antisense molecules that seek out and destroy viral gene products. In tissue culture, antisense oligonucleotides have inhibited infections by herpesviruses, influenza viruses and the human immunodeficiency virus that causes AIDS. It may also be possible to target antisense oligonucleotides against mutated oncogenes. Antisense technology also holds the potential for regulating growth and development. However, in order for the gene therapy to work, antisense sequences must be delivered across cellular plasma membranes to the cytosol.

Gene activity is also modified using sense DNA in a technique known as gene therapy. Defective genes are replaced or supplemented by the administration of "good" or normal genes that are not subject to the

prevent replication of SFVHu-1 in humans. Surprisingly, the inventors have found that SFVHu-1 has a high rate of replication in the human host. The virus is found in the peripheral blood lymphocytes (PBL) of the host and is cultured from such cells in tissue culture systems. Reverse transcriptase activity has been found in the PBLs and plasma of the infected host. Viral RNA of SFVHu-1 has been shown by viral RT-PCR in both PBLs and plasma of the infected host. No other foamy virus has shown this activity. The literature has reported that there has been no identification of foamy viral replication in humans, until now, with the present invention, no such replication has been shown.

Virus isolation was attempted by co-culturing the PBLs (peripheral blood lymphocytes) of Case A with Cf2Th canine thymocytes, a cell line known to be permissive for spumavirus infection. See Mergia A, et al., "Cell tropism of simian foamy virus type 1 (SFV-1)," J. Med. Primatol. 1996:25:2-7. Reverse transcriptase activity was detected in co-cultures from the cells exposed to Case A PBLs but not from controls. Transfer of supernatant from the above cells exposed to Case A's PBLs passed this reverse transcriptase activity to uninfected cells, which subsequently showed cytopathic effect (CPE). This finding indicated that the infectious agent in Case A's PBLs was transmitted to tissue culture cells which were used to transfer the infectious agent into other tissue culture cells. Additionally, this indicated that the infectious agent reproduced in the Cf2Th canine thymocytes. DNA-PCR of infected cells was found to be positive for a SFV-like virus. Infected cells showed strong reactivity with all 3 cases' sera by both immunofluorescent assay and western blot and no reactivity with normal sera controls. By electron microscopy, infected Cf2Th cells, derived from cell free supernatants from cells infected by exposure to infected PBLs, showed a morphology characteristic of foamy virus infection (See Figure 1).

The present invention is directed to compositions and methods comprising a new spumavirus, SFVHu-1. The virus was isolated from humans who had worked with nonhuman primates. The new spumavirus, or foamy virus, does not appear to cause any disease in the human hosts. The new virus of the present invention may be an excellent vector for gene therapy and for vaccination purposes. Additionally, the antibodies or other detection methods for detecting the new virus may be important in detecting

The 5' sequenced region of SFVHu-1, shown in Seq ID 3, comprises the LTR (Long Terminal Repeat). In foamy viruses, the LTR aids in the replication of the virus. The LTR is transactivated by a virus-specific protein, and unlike related retrovirus, HIV (Human Immunodeficiency Virus), no human cellular transcription factors activate the virus. LTRs in retroviruses like HIV have conserved consensus sequences for cellular transcription factors.

According to sequence homology, SFVHu-1 Seq ID 3 LTR are stable. There has not been significant change in the sequence even after long passage in a human host. For gene therapy uses, this stability is very important. It also appears that the internal promoter, found in the 3' sequence, Seq ID 4, is also conserved. Thus, the transcriptionally important regions of SFVHu-1 are stable. This indicates that the virus is not acquiring human sequences that would cause it to possibly become virulent or at least cause disease in humans due to introduced mutations. SFVHu-1, because of this stability, is an excellent vector, vaccine or gene therapy agent for humans. This stability is surprising in light of the high instability of the LTR of the virus known as HFV, Human Foamy Virus. HFV was derived from a nasocarcinoma and is now believed not to be a human foamy virus, but a chimpanzee virus. The HFV LTR is unstable and has lots of deletions, thus making it an undesirable vector.

The foamy viruses are unique in that at the 3' end of the env gene there is an internal promoter, IP. ORF 1 codes for a transactivator protein, TAF. TAF activates IP. Once the virus infects the cell, a little TAF is made, this TAF activates the internal promoter IP, which then causes the virus to make lots of TAF. Once sufficient quantity of TAF is made, the TAF functions to initiate the promoter found in the 5' LTR.

ORF 2 has presently unknown function, though it is theorized that it is necessary for replication of the virus *in vivo*. Without all of ORF 2 present, the virus will replicate *in vitro*, but the existing paradigm, prior to the present invention, was that ORF 2 was required for *in vivo* replication. ORF 2 is a putative site for gene insertion. Surprisingly, it has been found in Seq. ID 4, that ORF 2 of SFVHu-1 has multiple stop codons that prevent its translation. SFVHu-1 has a 5 base insertion and a point mutation that prevent accurate translation of ORF 2. According to the existing theory for foamy virus replication *in vitro* discussed above, these mutation should



1301 CTAACCCCGA CAAAATGAGT AAGTGGGCCT GTGCAAGGCT TATTCTTTGT  
1351 GGACTTTATA ATGCAAAAAA GGCTGGAGAA CTCTTGGCTA TGGACTATAA  
5 1401 TGTTC AATGG GAACAATCAA AAGAAGACCC AGGATACTTT GAAGTGGAAT  
1451 ATCACTGTAA AATGTGCATG ACTGTTATTC ATGAACCTAT GCCTATCCAA  
1501 TATGATGAAA AA ACTGGATT ATGGCTAAAA ATGGGTCCCC TTAGGGGAGA  
10 1551 TATAGGATCT GTAGTACATA CTTGTAGAAG GCATTACATG AGATGTTTGT  
1601 CTGCCCTTCC TAGCAATGGA GAACCTCTCA AACCTAGAGT CCGGGCTAAT  
1651 CCTGTCCGAA GATATCGAGA GAAGCAAGAG TTCGTTGCGA CTAGGCCTAA  
15 1701 ACGCTCCAGA TGGGGTGTGG CCCCTAGCGC AGACTCCCAT ACTTCCAGTG  
1751 GTGACGCCAT GGCCCTTATG CCAGGACCAT GCGGCCCTT CGGTATGGAC  
20 1801 ACTCCTGGTT GCTTACTGGA AGGGATACAA GGATCAGGGC CTGGAACCTC  
1851 CGAAATGGCT GTGGCAATGT CAGGAGGACC TTTCTGGGAA GAAGTGTACC  
25 1901 GGGACTCAAT TCCTGGTGCC CCCACTGGGT CTAGTGAAAA TTAGGCTTTA  
1951 TCAAATCTA ACTGTTGTAA ATGTTTGTGG ATCTGTTGAC CCATGGGAAA  
2001 ATGAGAATCC CACTAGAGGT CGCAGAGGGC CTATGCATAG ATATGATTGT  
30 2051 AGAATTGCTT GTGATCCAAG CTATTGCTTT AAGGCTATTT GGGAAGGAAA  
2101 CTTTGGGAC AAAAAAAAAA GGATCAGGCA TGCTGGCTAG TTCATCTGAA  
35 2151 AGAAGGACAT AAATTTGGTG CAGATGAGTT ATCTTCTGGG GATCTTAAAA  
2201 TATTAGCAGA ATCTAGACCT TATCCATATG GATCTATTGG TCATTGTGCT  
2251 ATGCTTCAAT ATGCAGTACA AGTTAAAATG AGAGTTGATA GAGCTCCTTT  
40 2301 GACCTCAAAG GTGAGAGCTA TTAAAGCTTT GCACTATCAT CGCTGGAATA  
2351 TTTGTCAGCT GGAAAATCCT GGCATAGGAG AAGGATTCAG TCCCTCTGGT  
45 2401 AATACACA

Seq. IDs 1-4 can be used for all the molecular biological techniques known to those skilled in the art. Such uses include, but are not limited to, generation of probes and vectors containing the sequences, antisense sequences derived from such sequences, and proteins synthesized using the sequences. RNA and other nucleic acid derivatives are contemplated by the present invention.

sequence is identified as Seq. ID 4 and contains 2406 nucleotides. This sequence is analogous to SFV-3 bases 8953 to 11,356.

Seq. ID 4

5 1 AAGGGGATGT TGAGCAATCC AACATGTGCA TACCCACTTG AATCATCTTA  
51 AAACCATGTT ACTAATGAGG AAGATTGACT GGACTTTTAT TAAGAGTGAT  
10 101 TGGATTAAAG AACAACTTCA GAAAACTGAA GATGAAATGA AGATTATTAG  
151 AAGAACAGCT AAAAGTTTAG TATATTATGT GACTCAAACA TCATCTTCCA  
201 CTACAGCAAC ATCATGGGAA ATTGGAATTT ATTATGAAAT AACTATACCA  
15 251 AAACATATTT ATTTGAATAA TTGGCAAGTT GTTAACATAG GTCATCTGAT  
301 TGAGTCAGCT GGTCATTTGA CCTTAATAAG GGTTAAACAT CCTTATGAAG  
351 ACTTTAATAA AGAATGCACA TATGAACAAT ATTTACATCT TGAAGACTGC  
20 401 ATATCTCAGG ATTATGTGAT TTGTGACACG GTACAAATAT TGTCACCATG  
451 TGGAAACTCA ACAGTAACCA GTGACTGCCC TGTCACTGCT GAAAAGGTAA  
25 501 AGGAACCATA TATTCAAGTG TCAGCTTTAA AAAATGGAAG CTATTTGGTT  
551 CTAACCAGTA GAACAGATTG CTCAATACCA GCATATGTTT CCAGCATTGT  
601 AACTGTGAAC GAAACAGTTA AGTGTTTTGG GGTTGAGTTT CATAAACCAC  
30 651 TATACTCAGA AAGTAAAGTC AGCTTTGAAC CACAAGTTCC ACATCTGAAA  
701 CTACGCTTGC CACATCTGGT TGGGATTATT GCAAGTCTTC AAAATTTGGA  
35 751 AATTGAAGTA ACNAGCACCC AAGAGAGTAT ANAAGATCAG ATTGAAAGAG  
801 TTCAATCACA GCTTCTTCGG CTGGACATTC ACGAGGGAGA CTTTCCTGCT  
851 TGGATTCAAC AACTTGCTTC TGCAACCAAG GACGTCTGGC CTGCAGCTGC  
40 901 TAAAGCTCTT CAAGGCATAG GTAACTTTTT ATCTAATACT GCCCAGGGAA  
951 TATTTGGAAC TGCTGTAAGT ATTCTATCCT ATGCCAAGCC TATTCTTATA  
45 1001 GGAATAGGTG TTATACTTTT GATTGCATTC TTGTTTAAGA TTGTATCATG  
1051 GCTTCCTGGG AAGAAGAAAA AGAACTAGGA CATCTGCATC TTCCAGAAGA  
1101 CGATCCTCTG CCAATTTAG ATGTGCTCCT GGGTCTTGAT CATATGGAAT  
50 1151 CCAATGAAGG ACCTGATCAA AATCCAGGAG CTGAAAAGAT CTACATTCAA  
1201 CTCCAAGCAG TCCCAGGGGA AGCCTCAGAG AAAACTTACA AATTTGGATA  
55 1251 TGAAGACAAA GAGGCACAAA ATCCTGACTT AAAAATGAGA AATTGGGTTC

351 GCAACTGCTT ATGCTTAAGA ATGAATCAGT ATATTGTTTA GGAATAAGTT  
401 ATAGTTTATA AGAAGTTAAT CCTTAGGGAG TATTTGGTGG AAATGACTGA  
5 451 GTGACATGAA GTTTATTCAC CATACTCTCA ATAGGAGCCA CTAGTTGAGC  
501 CTGTGCGTTC AAATCCATGC TCAGCTTAAG TGACTCCCTT TTAGTTTCAC  
551 TTTAAGTTAA GTTAGGAATA AGTTCCATAT AATCCTAAGG GAGTATGTGG  
10 601 ACCTTCTTGT TAGGAAATAG TTTAAGATAG TCCACAGCTC CCTTCTTTTT  
651 GAGTTCTAGT CTTTGTTAAG TTGTTGGCT CACACAGATA AAGTGCTCAT  
701 TAAACAGGAA ACCGCAACCG GGTAAAGGTT AGCACAGTAA ATTAAGCTAG  
15 751 CAGTTACTCA AGAGCCCGGT AAGCATTCAA GTAGTTCGAA TCCCTTTAAT  
801 GCTGACGGAT TGCTCTTTAG TGAGGTGATG TAATCTGTTT TTGCAATCTG  
20 851 AAATGTGTGT TTGCACAGGA AGTTGTACAA GAAAGGGAAT GGCTAAACTT  
901 GTTACAGTTC GAACAAACAT TTAGCAATTT CCTTTGCTTT TGGAGTTCGA  
25 951 GCCTTGTACT TATACTTTGA GCATATGTAT TGTAACACCT AAGTATGGAA  
1001 AAATCTCCAA GTATGAGTCA CGAGATGCTT GGCTCACTGC GTTGGACGAC  
1051 TGGAAAGAAG CTTCAACAGT CGGGACAGCA TCTCGAAGAA GGCCTCCGGA  
30 1101 ATGAAAGAGT GAAAAATGAA GTCTCCTCAT TCAGAGAGCC TTCTTTTAGA  
1151 ATTTCAGGCA GAATAGAGTT TCCAATAGAA TAACTTTTG TATTAGCAGA  
35 1201 TAGATAGGAT ATATAATCTC TGCTTTAGAT TGTACGGGAG CTCACCACTA  
1251 CTCGCTGCGT CGAGAGTGTT CGAGTCTCTC CAGGCTTGGT AAGATATAAA  
1301 CTTTGGTATT CTCTGTATTC TTATGATCCA ATATTACTCT GCTTATAGAT  
40 1351 TGTAATGGGC AATGGCAATG CTTTATCAAT GAATGATTTT ATGGTGAATT  
1401 AAGTTCATAT ATGTTTTAAG AAGTTTAACA ATAAACCGAC TTAATTCGAG  
45 1451 AACCAGATTT ATTAGTATTG TCTCTTTCTA TACTTTAAGT AAAGTGAAAG  
1501 GAGTTGTATA TTAGCCTTGC TTATAAGAGC CATCTAGTGG TATAAGTGTG  
1551 TACTACACTT ATCTAAA

50

A 3' internal region of SFVHu-1 has also been sequenced. This sequence includes ORF 1 (Open Reading Frame) and ORF-2, which are overlapping genes, and includes 3' sequence from env and bel genes. This

AATGTCTGGTCACAAATGCAGCTACCTTAGCTGCGCCTCCAATACTGAGG  
CCTGAAAGACCTGTAAAGCCTTTTGATAAAATTTTTGTTGACTATATTGG  
CCCTTTACCCCCTTCTAATGGGTACTTACATGTCCTTGTAGTAGTCGATG  
GTATGACTGGATTTGTATGGTTA

5

Seq. ID 2

TTACTACAAGGACAATATCCAAAAGGTTTTCCAAAACAATATCAATATGA  
ACTTAATGAAGGACAAGTTATAGTAACTCGTCCTAATGGACAAAGAATTA  
TTCCTCCAAAATCAGACAGGCCTCAAATTATTTTGCAAGCACATAATATT  
GCACATACAGGAAGAGATTCAACCTTTCTTAAGGTCTCTTCCAAGTATTG  
GTGGCCAAATCTTAGAAAGGATGTGGTTAAAGTTATCAGACAATGTAAGC  
AATGTCTGGTCACAAATGCAGCTACCTTAGCTGCGCCTCCAATACTGAGG\*\*  
CCTGAAAGACCTGTAAAGCCTTTTGATAAAATTTTTGTTGACTATATTGG  
CCCTTTACCCCCTTCTAATAGGTACTTACATGTCCTTGTAGTAGTCGATG  
GTATGACTGGATTTGTATGGTTA

10

15

The relationship between each of the isolates and other known  
spumaviruses is shown in Fig. 5 which is a phylogenetic tree showing the  
percent homology of the nucleotide sequences of these viruses and in Figure  
6.

20

The 5' end of the LTR of SFVHu-1, of 1567 nucleotide bases, has  
also been sequenced, and is shown as Seq. ID 3.

1 TTCCCAATAA ACATCATCCT GGGTGGACTA GACATCTTAC TAAATTCAAG  
51 ATATCTAGAT TCTCCACTCC TGCTGATGTC CAGAAAATTG TGGATGAGCT  
101 TCTCCCTAGA GGAGCAAGCA TTGTAATGCC TGATGGAACA AAGTATCCAA  
151 GTACCAGAAA AGTGCACTTA GTCAATGAAG GAACCCTTGT AGAATACCAA  
201 GCCAAATGTA AGGAGATAGA GGAAAAGTAC GGAGGATGCT TTTCTACAGA  
251 TAGTGATGAT GACAGTGATG ATTACTCTGA GGATACTCCA GAAACTGAAA  
301 CCACTGATGT GGAATAGAGT ACAGTGTTAA GGATTCACAT AATCTGCCTA

25

30

35

commonly called simian foamy viruses, or SFV), simian T-lymphotropic viruses (STLV), and simian type D retroviruses. 1,823 samples from 13 institutions in the United States had been tested for simian immunodeficiency virus; samples from 231 of the participating volunteer workers were also tested for other retroviruses from non-human primates. Three of these 231 workers (1.3%) were determined to be infected with a SFV-like virus by serology and PCR.

An immunofluorescent assay that was developed using cells infected with SFV serotype 3 identified antibodies to a SFV-like virus in recently collected serum specimens from all three workers. The 3 specimens were also western blot positive, showing reactivity to both p70 and p74 gag precursor bands of SFV-3 antigen. Repeat testing of additional sera obtained from these 3 workers at later time points are also positive in both assays. (These workers or cases are herein identified individually as Case A, Case B, and Case C.)

Additional blood samples from these three cases were tested for SFV proviral DNA sequences using polymerase chain reaction (PCR) assays employing primer sets from two regions of the polymerase gene that are conserved among known primate foamy viruses. All three cases were PCR positive in both regions. The PCR products from one region were sequenced. The sequences from each case were distinct from each other but all showed greater than 80% homology to known non-human primate foamy virus sequences. The partial sequences, produced with DNA polymerase PCR primer, of the viral sequence of the present invention is shown below. Seq. ID 1 is a viral DNA sequence isolated from infected Cf2Th cells and Seq. ID 2 is a viral DNA sequence isolated from PBLs from Case A. There is 99.76 % homology between the two sequences. The corresponding RNA sequences and resulting proteins can be deduced from these sequences.

Seq. ID 1

TTACTACAAGGACAATATCCAAAAGGTTTTCCAAAACAATATCAATATGA  
ACTTAATGAAGGACAAGTTATAGTAACTCGTCCTAATGGACAAAGAATTA  
TTCCTCCAAAATCAGACAGGCCTCAAATTATTTTGCAAGCACATAATATT  
GCACATACAGGAAGAGATTCAACCTTTCTTAAGGTCTCTTCCAAGTATTG  
GTGGCCAAATCTTAGAAAGGATGTGGTTAAAGTTATCAGACAATGTAAGC

line showing control Cf2Th cells that were co-cultured with normal human peripheral blood lymphocytes, indicating there was no constitutive reverse transcriptase activity in these cultures .

5 Figure 3 is a Western blot of sera from Case A, Case B and Case C and the sera of spouses of two of the cases. The sera was tested against the whole cell lysate from Cf2Th cells infected with the spumavirus isolate. Whole cell lysate of uninfected Cf2Th were used as a control for seroreactivity towards nonviral proteins. In addition, the sera of Case B provides a view of the history of infection because of the existence of Case  
10 B sera obtained in 1967, and in 1978, 1980, and 1981.

Figure 4 is a phylogenetic tree showing the relationships between the sequences of the viruses of the novel spumavirus of the present invention and known spumaviruses.

15 Figure 5 is a comparison of the nucleotide homology of the sequenced portion of the present invention and other retroviruses.

### Detailed Description of the Invention

In response to the identification of simian immunodeficiency virus infection in an occupationally exposed workers. Centers for Disease Control  
20 and National Institutes for Health collaborated in an anonymous serosurvey of persons with similar work exposures. Simian immunodeficiency virus seroreactivity was present in 3/427 (0.64%) stored serum samples from these anonymous workers (See CDC. Anonymous survey for simian immunodeficiency virus (SIV) seropositivity in SIV laboratory researchers  
25 -- United States, 1992. *MMWR Morb Mort Wkly Rep* 1992; 41: 814-5; Khabbaz RF, et al.,. Brief report: infection of a laboratory worker with simian immunodeficiency virus. *New Eng J Med*. 1994; 330: 172-7). Consequently, a voluntary testing and counseling program was developed that allowed linkage between specific exposures or health outcomes and  
30 serostatus of persons occupationally exposed to simian immunodeficiency virus. The workers enrolled in this voluntary linked prospective simian immunodeficiency virus surveillance are also at occupational risk for exposure to other retroviruses common in nonhuman primates (non-human primates).

35 Therefore, in 1995, the linked surveillance was expanded to include voluntary testing and counseling for exposure to simian spumaviruses (more

It is another object of the present invention to provide a method of detecting a spumavirus.

It is yet another object of the present invention to provide methods and compositions for detecting the presence and amount of spumavirus in a body fluid or organ.

A further object of the present invention is to provide compositions and methods for treating genetic and physiologic disorders using gene therapy techniques comprising the novel spumavirus of the present invention as a vector for nucleic acid sequences and antisense sequences.

Another object of the present invention is to provide compositions and methods useful for manipulating the expression of genes.

Yet another object of the invention is to provide vaccines.

Yet another object of the present invention is to provide compositions and methods for treating viral infections in humans or animals.

Another object of the present invention is to provide compositions and methods that are effective in treating genetic diseases.

Yet another object of the present invention is to provide a method of treating microbial infections in humans or animals.

It is another object of the present invention to provide for treatments of conditions that are caused in part by rapidly dividing cellular growth.

Another object of the present invention is to provide live recombinant virus vaccines.

An object of the present invention is to provide diagnostic tools such as antibodies or antigens for the monitoring of the blood supply or organ and tissue donation for the presence of spumavirus.

These and other features and advantages of the present invention will become apparent after a review of the following detailed description of the disclosed embodiments and the appended claims.

### **Brief Description of the Drawings**

Figure 1 shows a transmission electron microscope photomicrograph of viral particles in Cf2Th canine thymocytes.

Figure 2 shows tissue culture AMP-reverse transcriptase activity in canine thymocyte cells (Cf2Th) co-cultured with peripheral blood lymphocytes from an infected case worker. Along the baseline is another

The present invention further includes methods and compositions for the use of replicating viral system to kill live dividing cells in a host or *in vitro*. In *in vitro* uses, SFVHu-1 can be used to detect and kill rapidly dividing cells. Foamy viruses, including SFVHu-1, can infect a wide variety of species of cells and can be used in many *in vitro* cell systems. For example, if the assay of the *in vitro* cell system required the identification of quiescent cells, application of SFVHu-1 to the tissue culture system would result in the selection of the rapidly dividing cells by SFVHu-1. The tissue culture cells would be infected, but because SFVHu-1 has a productive infection and cytopathic effects only in dividing cells, the dividing cells are killed by such dividing cells would be infected by SFVHu-1 and killed by such infection. The remaining non-dividing cells of the culture would remain alive.

In a host, the ability of SFVHu-1 to infect dividing cells provides an excellent treatment for conditions due to the presence of rapidly dividing cells. For example, a person with disease due to rapidly dividing cells, such as cancer or any known angiogenic condition, could be infected with SFVHu-1. Such virus may or may not carry other, exogenous genes for other effects in the host. Because SFVHu-1 does not cause disease in the host and there is no transmission of the virus to contacts with the host, only the person with the disease from rapidly dividing cells will be treated. In addition, only the rapidly dividing cells of that host person will be infected by SFVHu-1, and the rest of the body will remain uninfected. The virus will infect the rapidly dividing cells and kill them. For example, a person with a fast growing tumor would be infected with SFVHu-1 and the cells of the tumor would be destroyed by the virus. The SFVHu-1 can be recombinantly modified to be selective for cellular receptors on the tumor to make the virus even more specifically targeted to just those cells.

Such treatment with SFVHu-1 could be used for any condition in which rapidly dividing cells provide an aspect of the pathology of the condition. One such condition is the presence of uncontrolled angiogenesis within the body. Angiogenesis dependent diseases are well known in the art and are caused in part by the rapid growth of blood vessels.

Accordingly, it is an object of the present invention to provide a composition comprising a novel spumavirus.



The present invention also includes methods and compositions for detecting spumavirus in biological fluids. The methods and compositions, including kits, can be in any configuration well known to those of ordinary skill in the art. The present invention also includes antibodies specific for the spumavirus and antibodies that inhibit the binding of antibodies specific for the spumavirus. These antibodies can be polyclonal antibodies or monoclonal antibodies. The antibodies specific for the spumavirus can be used in diagnostic kits to detect the presence and quantity of spumavirus in biological fluids or in organs from nonhuman primates for xenotransplantation. Antibodies specific for spumavirus may also be administered to a human or animal to passively immunize the human or animal against spumavirus, thereby reducing infection after accidental exposure to nonhuman primate bodily fluids.

The present invention also includes compositions and methods, including kits, for detecting the presence and quantity of antibodies that bind spumavirus in body fluids. The methods, including kits, can be in any configuration well known to those of ordinary skill in the art. Such kits for detection of spumavirus itself or detection of antibodies to the spumavirus can be used to monitor the blood supply for the presence of spumavirus in the blood supply.

The present invention also includes methods and compositions comprising recombinant live virus vaccines. The virus of the present invention has areas of its genome that make it ideal for the insertion of exogenous genes. The genes can code for any protein for which vaccination or gene therapy is desired. Because SFVHu-1 replicates at a higher level than other known foamy viruses, it is capable of providing a high level of antigen to the host carrying the virus. After administration of SFVHu-1 to the host, the virus would infect the cells, replicate and provide protein antigens to the immune system of the host. A novel aspect of such recombinant live viruses is that SFVHu-1 does not cause disease in the host organism. Additionally, there is no transmission from one host organism to other non-infected host organisms, even by close contact with exchange of bodily fluids. The recombinant live virus vaccines of the present invention are a safe way to provide antigen in a most optimum method to the immune system.

The novel spumavirus of the present invention has utility as a reagent for the immunological screening of the human population for the prevalence of such viruses in the population. The novel spumavirus of the present invention can also serve as a vector in gene therapy because the virus appears to cause no disease in humans and is not transmitted to other humans. Additionally, the novel spumavirus of the present invention can be used as a reagent in pathogenicity studies of these and related viruses. Moreover, the sequences of the novel spumavirus of the present invention can be used as probes to detect virus in biological samples. Vectors include, but are not limited to, procaryotic, eucaryotic and viral vectors. The foamy virus of the present invention can also be used as a live recombinant virus vaccine. Additionally, the spumavirus of the present invention can be used as a replicating viral system to kill live dividing cells, either *in vitro* or *in vivo*.

The spumaviruses or foamy viruses are by far the least well characterized of the retroviruses. They have been isolated as agents that cause vacuolation ("foaming") of cells in culture from a number of mammalian species, including monkeys, cattle, cats, and reportedly in humans. Persistent infection with these viruses is not associated with any known disease.

Recent studies using improved diagnostic assays have shown no evidence of foamy virus infection of humans in studies of large populations (approximately 8,000 persons). Given these results, the identification of seroreactivity in three persons occupationally exposed to non-human primates is notable. The PCR identification of viral genome sequences in biologic specimens from all three, and isolation of the virus from one, confirm virus infection in these workers.

The present invention includes the isolation and characterization of a spumavirus, SVFHu-1, that was shown to have been transmitted from non-human primates to humans at some point in the past. The retrovirus of the present invention, like another retrovirus of a more virulent nature, HIV-1 (Human Immunodeficiency Virus) The spumavirus of the present invention does not appear to be readily transmitted from human to human. The spumavirus of the present invention can be used in constructing protocols for diagnosing spumavirus infections and may be used as a vector in gene therapy procedures.

96M-0311. Draft Public Health Service (PHS) Guideline on Infectious Disease Issues in Xenotransplantation. Federal Register Vol.61, No. 185. September 23, 1996.). The primary animal species considered as donors for xenografts are baboons and pigs. Thus, what is needed are compositions and methods for detecting viruses that may be transmitted from the nonhuman organ donors to the recipient human. Additionally, information regarding these transmissible agents may provide valuable information about the organ donors' cellular receptors that may be important for transplantation success.

Gene therapies have long looked for a good vector that can transport the foreign gene of choice into human cells. The lack of any known disease associated with the virus of the present invention makes the present invention an ideal candidate for gene therapy regimens. Thus, compositions and methods for gene therapy are needed that use a vector capable of carrying a significant amount of foreign DNA that will enter the host organism and not cause disease.

Compositions and methods for vaccination using recombinant live retroviruses are also needed. A live virus, that causes no illness in humans, and that has genes of antigens of choice incorporated into its genome, would provide for an excellent vaccination tool. The retrovirus would reproduce in the human host and expose the immune system to antigens so that an immune response can be initiated.

Targeted attack on reproducing cells is a goal of cancer treatment. What is needed is are compositions and methods for cancer treatment that are specific for dividing cells that do not cause systemic damage to the cancer patient. A virus that could infect and kill dividing cells, without killing other cells of the host would provide a solution for cancer treatment.

### Summary of the Invention

The present invention is directed to compositions and methods comprising a novel spumavirus or foamy virus, known as SVFHu-1. The present invention comprises a spumavirus isolate of human origin that has been definitively isolated from a human with no disease. The novel spumavirus of the present invention has been maintained through tissue culture cells where it causes the characteristic vacuolation of the cells that is known for foamy viruses.

lacked definitive evidence of human infection and were not subsequently confirmed. (See Heneine W, et al., Absence of evidence for human spumaretrovirus sequences in patients with Graves' disease [letter]. J Acq Immune Defic Synd & Human Retrov. 1995; 9: 99-101; Simonsen L, et al., Absence of evidence for infection with the human spumaretrovirus in an outbreak of Meniere-like vertiginous illness in Wyoming, USA [letter]. Acta Oto-Laryngologica 1994; 114: 223-4; and Heneine W., et al., Lack of evidence for infection with known human and animal retroviruses in patients with chronic fatigue syndrome. Clin Infect Dis 1994; 18: S121-5).

To the knowledge of the inventors, there has not been a documented, definitive isolation of a spumavirus, such as the one of the present invention, from humans. Previous reports of human spumavirus isolates are now widely regarded as laboratory contaminants.

Recent publications indicate that earlier serological tests showing human spumavirus antibodies in the human population were incorrect. Immunological investigation of a previously reported human spumavirus revealed that it shared common antigens in complement fixation, immunofluorescence and neutralization assays with the chimpanzee foamy virus, SFV-6. Furthermore, failure to detect serological evidence of HFV infection in people from a wide geographical area suggested that this virus isolate was a variant of SFV-6, particularly since sera from chimpanzees naturally infected with SFV-6 neutralized both viruses. In a survey for prevalence of human foamy virus in more than 5000 human sera, collected from geographically diverse populations, none of the serum samples were confirmed as positive. Taken together with sequence analysis endorsing the phylogenetic closeness of the purported human spumavirus to SFV-6/7, these data strongly suggest that human foamy virus is not naturally found in the human population. (See Ali, M. et al., "No Evidence of Antibody to Human Foamy Virus in Widespread Human Populations," AIDS Research and Human Retroviruses, Vol. 12, No. 15, 1996.)

Recent concern that xenotransplantation, the use of living tissues from nonhuman species in humans for medical purposes, may introduce new infections into the human community has increased the importance of defining the ability of simian retroviruses to infect and/or cause disease in humans (See Chapman LE, et al. Xenotransplantation and xenogeneic infections. New Engl J Med 1995; 333: 1498- 1501; DHHS. Docket No.

immunodeficiency virus. New Eng J Med. 1994; 330: 172-7; Khabbaz RF, et al. Simian immunodeficiency virus needlestick accident in a laboratory worker. Lancet 1992; 340: 271-3; and CDC. Guideline to prevent simian immunodeficiency virus infection in laboratory workers and animal handlers. MMWR 1988; 37:693-704.) In addition to SIV, nonhuman primate species used in biomedical research are commonly infected with SFV (simian foamy virus), STLV (simian t-cell lymphotropic virus), and/or type D retroviruses. All of these retroviruses cause lifelong infections in nonhuman primates, and some are known to be transmissible through sexual contact, blood, or breast feeding. Natural SFV infections in non-human primates have not been definitively associated with disease. In non-human primates, infection with the other retroviruses may result in a clinical spectrum ranging from asymptomatic infection to life threatening immunodeficiency syndromes or lymphoproliferative disorders. The transmission routes of SFVs among non-human primates remain undefined, but the prevalence of seroreactivity is high among captive adult non-human primates.

Studies of the prevalence of spumavirus infection of humans are limited and the findings are not definitive. Though there is some evidence of human infection with SFV (antibodies and positive PCR results), such occurrence has been reported in only two persons, both of whom had occupational risks for infection. Associated disease was not reported in either. (See Schweizer M., et al. Absence of foamy virus DNA in Graves' disease. AIDS Res & Human Retrov 1994; 10: 601-5; Neumann-Haefelin D, et al., Foamy viruses. Intervirology 1993; 35: 196-207; and Schweizer M, et al., Markers of foamy virus infections in monkeys, apes, and accidentally infected humans: appropriate testing fails to confirm suspected foamy virus prevalence in humans. AIDS Res & Human Retrov 1995; 11: 161-70.) There have been no published reports that virus was ever isolated from these infected individuals.

Other inconclusive evidence was seen in early studies which described a relatively high rate of seroreactivity to antibodies to spumaviruses among human populations not known to be exposed to non-human primates. In some instances seroreactivity was suggestively linked to human disease, including disorders of the central nervous system, thyroid disease, and Chronic Fatigue Syndrome. In most instances these studies

5

10

## NEW SPUMAVIRUS ISOLATED FROM HUMANS

### Technical Field

15

The present invention relates to a novel retrovirus, a spumavirus, that has been isolated from humans. More particularly, the novel spumavirus may be used as a vector for gene therapy. The novel spumavirus may also be used as a recombinant live virus vaccine.

### Background of the Invention

20

Spumavirus, also known as foamy virus for the characteristics of vacuolization the virus induces in cell culture, belongs to a distinct group of retroviruses. The simian foamy viruses (SFVs) include isolates from Old World and New World monkeys and are classified into 10 different serotypes based on serological cross-reactivities. Virus appears to persist in the host for a long period of time in a latent form and can exist in the presence of neutralizing antibody.

25

30

35

Currently the most studied retrovirus, Human Immunodeficiency Virus, is believed to be derived from nonhuman primate transmission into humans at some past time. Concerns about the risk of transmission of retroviruses from non-human primates to humans working in research laboratories were heightened in the early 1990's when two persons developed antibodies to SIV (Simian Immunodeficiency Virus) following work-related exposures, one of whom had clear evidence of persistent viral infection. (See CDC. Anonymous survey for simian immunodeficiency virus (SIV) seropositivity in SIV laboratory researchers -- United States, 1992. MMWR Morb Mort Wkly Rep 1992; 41: 814-5; Khabbaz R.F., et al. Brief report: infection of a laboratory worker with simian

**FOR THE PURPOSES OF INFORMATION ONLY**

Codes used to identify States party to the PCT on the front pages of pamphlets publishing international applications under the PCT.

AL	Albania	ES	Spain	LS	Lesotho	SI	Slovenia
AM	Armenia	FI	Finland	LT	Lithuania	SK	Slovakia
AT	Austria	FR	France	LU	Luxembourg	SN	Senegal
AU	Australia	GA	Gabon	LV	Latvia	SZ	Swaziland
AZ	Azerbaijan	GB	United Kingdom	MC	Monaco	TD	Chad
BA	Bosnia and Herzegovina	GE	Georgia	MD	Republic of Moldova	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagascar	TJ	Tajikistan
BE	Belgium	GN	Guinea	MK	The former Yugoslav Republic of Macedonia	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Greece			TR	Turkey
BG	Bulgaria	HU	Hungary	ML	Mali	TT	Trinidad and Tobago
BJ	Benin	IE	Ireland	MN	Mongolia	UA	Ukraine
BR	Brazil	IL	Israel	MR	Mauritania	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Iceland	MW	Malawi	US	United States of America
CA	Canada	IT	Italy	MX	Mexico	UZ	Uzbekistan
CF	Central African Republic	JP	Japan	NE	Niger	VN	Viet Nam
CG	Congo	KE	Kenya	NL	Netherlands	YU	Yugoslavia
CH	Switzerland	KG	Kyrgyzstan	NO	Norway	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Democratic People's Republic of Korea	NZ	New Zealand		
CM	Cameroon	KR	Republic of Korea	PL	Poland		
CN	China	KZ	Kazakhstan	PT	Portugal		
CU	Cuba	LC	Saint Lucia	RO	Romania		
CZ	Czech Republic	LI	Liechtenstein	RU	Russian Federation		
DE	Germany	LK	Sri Lanka	SD	Sudan		
DK	Denmark	LR	Liberia	SE	Sweden		
EE	Estonia			SG	Singapore		

**CORRECTED  
VERSION\***

**PCT**

WORLD INTELLECTUAL PROPERTY ORGANIZATION  
International Bureau



INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

<b>(51) International Patent Classification <sup>6</sup> :</b> <b>C12N 7/00, 15/86, A61K 48/00</b>	<b>A1</b>	<b>(11) International Publication Number:</b> <b>WO 98/35024</b> <b>(43) International Publication Date:</b> 13 August 1998 (13.08.98)
<b>(21) International Application Number:</b> PCT/US98/02598 <b>(22) International Filing Date:</b> 12 February 1998 (12.02.98)  <b>(30) Priority Data:</b> 08/798,071      12 February 1997 (12.02.97)      US  <b>(63) Related by Continuation (CON) or Continuation-in-Part (CIP) to Earlier Application</b> US      Not furnished (CIP) Filed on      Not furnished  <b>(71) Applicant (for all designated States except US):</b> THE GOVERNMENT OF THE UNITED STATES OF AMERICA, represented by THE SECRETARY, DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES, Office of Technology Transfer Centers for Disease Control and Prevention [US/US]; Executive Park, Building 4, Suite 1103, M/S E-67, Atlanta, GA 30329 (US).  <b>(72) Inventors; and</b> <b>(75) Inventors/Applicants (for US only):</b> SANDSTROM, Paul, A. [CA/US]; 2749 Ashwood Place, Decatur, GA 30030 (US). BROWN, Jennifer [US/US]; 1140 Columbine Street #103, Denver, CO 80206 (US). FOLKS, Thomas, M.	<b>[US/US];</b> 3815 Bell Glade Trail, Lithonia, GA 30058 (US). HENEINE, Walid [LB/US]; 2001 Hollidon Road, Decatur, GA 30033 (US). SWITZER, William, M. [US/US]; 820 Stephenson Ridge, Stone Mountain, GA 30087 (US).  <b>(74) Agents:</b> MERCHANT, Mary, Anthony et al.; Jones & Askew, LLP, 37th floor, 191 Peachtree Street, N.E., Atlanta, GA 30303 (US).  <b>(81) Designated States:</b> AU, CA, JP, US, European patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).  <b>Published</b> <i>With international search report.</i> <i>Before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of the receipt of amendments.</i>	
<b>(54) Title:</b> NEW SPUMAVIRUS ISOLATED FROM HUMANS  <b>(57) Abstract</b>  The present invention comprises spumavirus isolated from humans. More specifically, the spumavirus of the present invention was isolated from humans who had exposure to nonhuman primates. Importantly, the spumavirus of the present invention or antibodies to the spumavirus can be used to detect the presence of spumavirus or antibodies in body fluids, for pathogenicity studies of related viruses, and as a vector for gene therapies. The spumavirus of the invention can also be used for treatment of conditions in humans due to the presence of rapidly dividing cells and for recombinant live virus vaccination.		

\* (Referred to in PCT Gazette No. 1 1999, Section II)





# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/US 98/02598

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
DE 4318387 A	08-12-1994	EP 0632129 A	04-01-1995
		JP 6343477 A	20-12-1994
		US 5646032 A	08-07-1997
-----			

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/US 98/02598

## Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
Although claims 19 and 20 are directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
2. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

## Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.  
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

In [REDACTED] Application No  
PCT/US 98/02598

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	SCHWEIZER M. ET AL.: "Phylogenetic analysis of primate foamy virus by comparison of pol sequences" VIROLOGY, vol. 207, 1995, ORLANDO US, pages 577-582, XP002066888 see the whole document ---	1-4, 6-13, 18-20
A	RENNE R. ET AL.: "Genomic organisation and expression of simian foamy virus type 3 (SFV-3)" VIROLOGY, vol. 186, 1992, ORLANDO US, pages 597-608, XP002066889 ---	1-4
Y	---	14-17
A	HIRATA R. ET AL.: "Transduction of hematopoietic cells by foamy virus vectors" BLOOD, vol. 88, no. 9, 1 November 1996, BROOKLINE, US, pages 3654-3661, XP002066890 ---	6-13,18
Y	---	14-17
A	RUSSELL D.W., MILLER A.D.: "Foamy virus vectors" JOURNAL OF VIROLOGY, vol. 70, no. 1, January 1996, BALTIMORE, US, pages 217-222, XP002066891 -----	6-18

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PCT/US 98/02598

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 6 C12N7/00 C12N15/86 A61K48/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 C12N C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
------------	------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------

X	<p>HAHN H. ET AL.: "Reactivity of primate sera to foamy virus Gag and Bet proteins" JOURNAL OF GENERAL VIROLOGY., vol. 75, October 1994, READING GB, pages 2635-2644, XP002066887 see abstract see page 2638 - page 2639 see figure 3</p>	1-4
Y	<p>DE 43 18 387 A (BAYER AG) 8 December 1994  see the whole document</p>	1-4, 6-13, 18-20

-/-

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

### \* Special categories of cited documents:

- \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*E\* earlier document but published on or after the international filing date
- \*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- \*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- \*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- \*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- \*Z\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

3 June 1998

Date of mailing of the international search report

09. 07. 1998

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Panzica, G

Simian Foamy Virus Percent Nucleotide Identity

	Case1	Case2	Case3	SFV 3 AGM	SFV BAB	SFV MAC	HFV	SFV CPZ	SFV PYG	SFV 8 SPM
Case1	-	82.6	82.1	87.5	82.4	77.4	68.7	66.6	67.2	66.4
Case2	-	-	95.5	81.7	92.7	76.2	68.3	66.4	68.9	62.3
Case3	-	-	-	82.1	93.9	76.9	67.5	66.5	69.3	62.3

FIG. 5

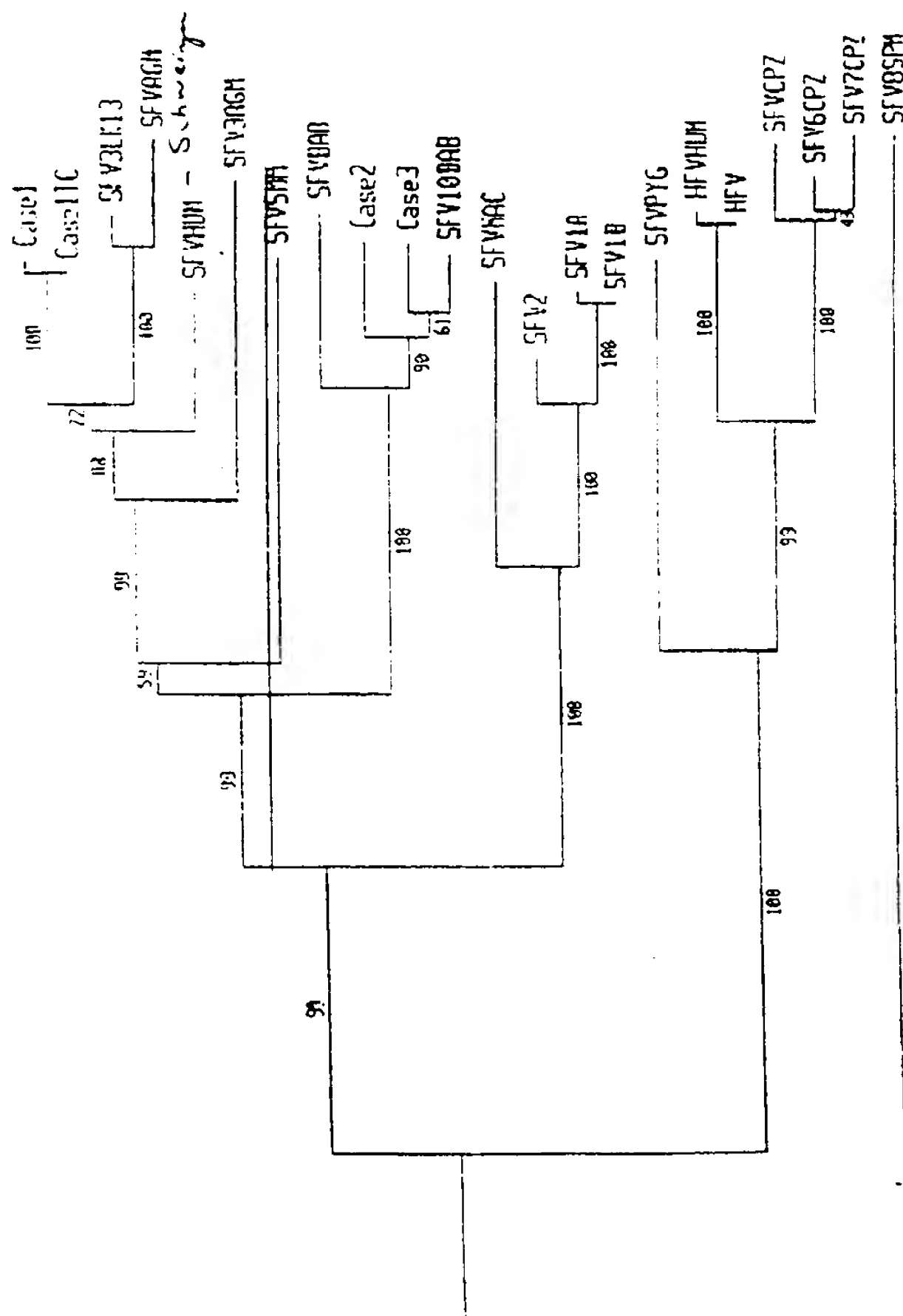
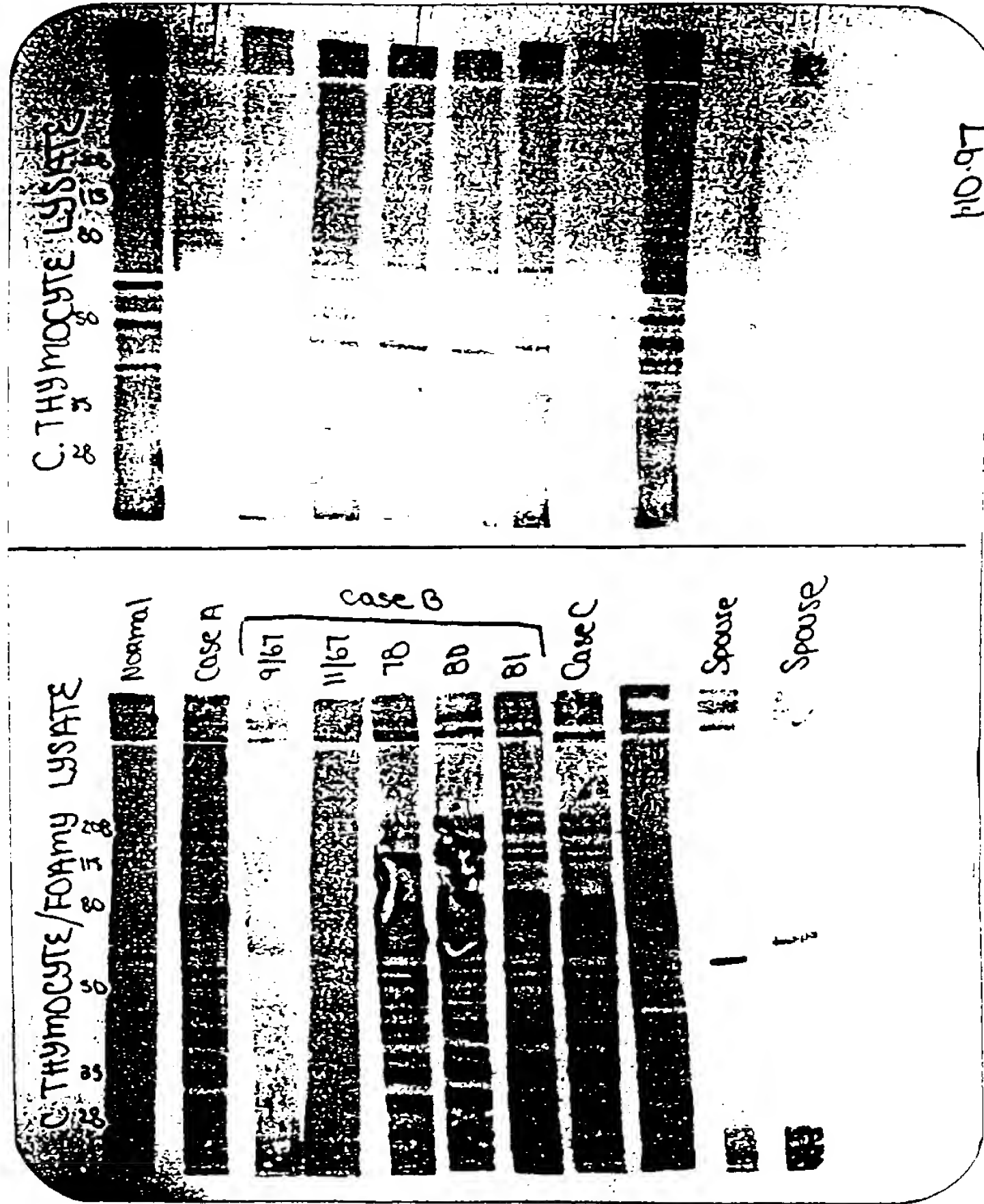


FIG. 3





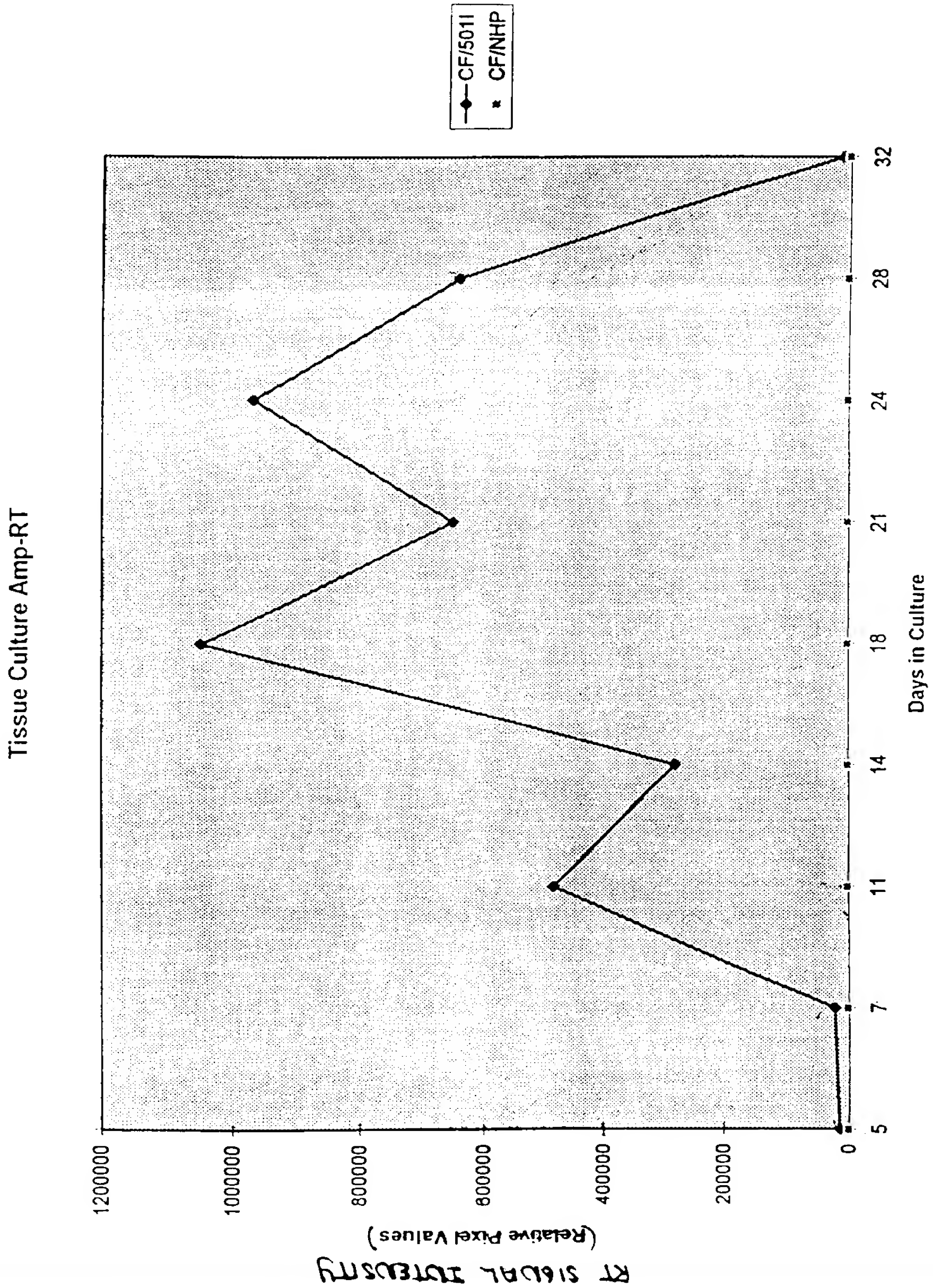


FIG. 2

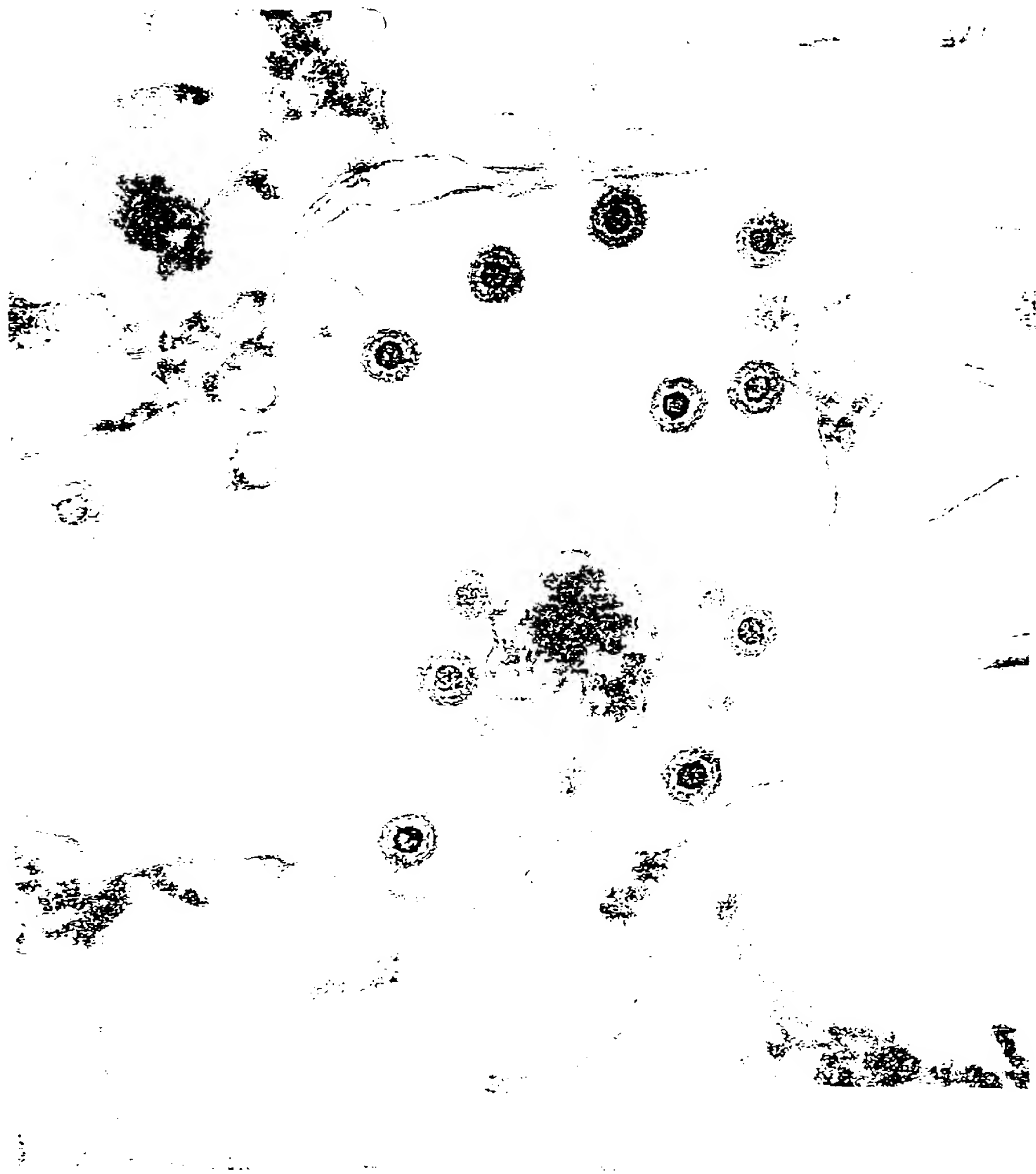


FIG. 1

12. The vector of Claim 6 wherein the vector is a eucaryotic vector.

13. The vector of Claim 6 wherein the vector is a viral vector.

5

14. The vector of Claim 6 wherein the sequence is derived from Seq ID. 1.

10

15. The vector of Claim 6 wherein the sequence is derived from Seq ID. 2.

16. The vector of Claim 6 wherein the sequence is derived from Seq ID. 3.

15

17. The vector of Claim 6 wherein the sequence is derived from Seq ID. 4.

18. The vector of Claim 6 wherein the vector is a probe.

20

19. A method of treating conditions in humans caused by rapidly dividing cells, comprising administration of a spumavirus isolated from humans.

25

20. A method of gene therapy, comprising administration of a spumavirus containing novel genes to a human.

## CLAIMS

What is claimed:

1. An isolated spumavirus cross-reactive with SFV-3  
5 antibodies.
2. The spumavirus of Claim 1, wherein the spumavirus is  
isolated from a human.
- 10 3. The spumavirus of Claim 1, wherein the spumavirus is  
capable of infecting humans.
4. The spumavirus of Claim 1, wherein the spumavirus is not  
readily transmitted from human to human.
- 15 5. The spumavirus of Claim 1, the spumavirus having ATCC  
Deposit Nos. \_\_\_\_\_.
6. A vector comprising a sequence from an isolated spumavirus  
20 cross-reactive with SFV-3 antibodies.
7. The spumavirus of Claim 6, wherein the spumavirus is  
isolated from a human.
- 25 8. The spumavirus of Claim 6, wherein the spumavirus is  
capable of infecting humans.
9. The spumavirus of Claim 6, wherein the spumavirus is not  
readily transmitted from human to human.
- 30 10. The spumavirus of Claim 6 having ATCC Deposit Nos.  
\_\_\_\_\_.
11. The vector of Claim 6 wherein the vector is a procaryotic  
35 vector.

GTAGTACATA CTTGTAGAAG GCATTACATG AGATGTTTGT CTGCCCTTCC TAGCAATGGA 1620

GAACCTCTCA AACCTAGAGT CCGGGCTAAT CCTGTCCGAA GATATCGAGA GAAGCAAGAG 1680

TTCGTTGCGA CTAGGCCTAA ACGCTCCAGA TGGGGTGTGG CCCCTAGCGC AGACTCCCAT 1740

ACTTCCAGTG GTGACGCCAT GGCCCTTATG CCAGGACCAT GCGGCCCTT CGGTATGGAC 1800

ACTCCTGGTT GCTTACTGGA AGGGATACAA GGATCAGGGC CTGGAACCTC CGAAATGGCT 1860

GTGGCAATGT CAGGAGGACC TTTCTGGGAA GAAGTGTACC GGGACTCAAT TCCTGGTGCC 1920

CCCACTGGGT CTAGTGAAAA TTAGGCTTTA TCAAAATCTA ACTGTTGTAA ATGTTTGTGG 1980

ATCTGTTGAC CCATGGGAAA ATGAGAATCC CACTAGAGGT CGCAGAGGGC CTATGCATAG 2040

ATATGATTGT AGAATTGCTT GTGATCCAAG CTATTGCTTT AAGGCTATTT GGGAAGGAAA 2100

CTTTTGGGAC AAAAAAAAAA GGATCAGGCA TCCTGGCTAG TTCATCTGAA AGAAGGACAT 2160

AAATTTGGTG CAGATGAGTT ATCTTCTGGG GATCTTAAAA TATTAGCAGA ATCTAGACCT 2220

TATCCATATG GATCTATTGG TCATTGTGCT ATGCTTCAAT ATGCAGTACA AGTTAAAATG 2280

AGAGTTGATA GAGCTCCTTT GACCTCAAAG GTGAGAGCTA TTAAAGCTTT GCACTATCAT 2340

CGCTGGAATA TTTGTCAGCT GAAAATCCT GGCATAGGAG AAGGATTCAG TCCCTCTGGT 2400

AATACACA 2408

TGTCACTGCT GAAAAGGTAA AGGAACCATA TATTCAAGTG TCAGCTTTAA AAAATGGAAG 540

CTATTTGGTT CTAACCAGTA GAACAGATTG CTCAATACCA GCATATGTTT CCAGCATTGT 600

AACTGTGAAC GAAACAGTTA AGTGTTTTTG GCTTGAGTTT CATAAACCAC TATACTCAGA 660

AAGTAAAGTC AGCTTTGAAC CACAAGTTCC ACATCTGAAA CTACGCTTGC CACATCTGGT 720

TGGGATTATT GCAAGTCTTC AAAATTGGA AATTGAAGTA ACNAGCACCC AAGAGAGTAT 780

ANAAGATCAG ATTGAAAGAG TTCAATCACA GCTTCTTCGG CTGGACATTC ACGAGGGAGA 840

CTTTCCTGCT TGGATTCAAC AACTTGCTTC TGCAACCAAG GACGTCTGGC CTGCAGCTGC 900

TAAAGCTCTT CAAGGCATAG GTAACTTTTT ATCTAATACT GCCCAGGGAA TATTTGGAAC 960

TGCTGTAAGT ATTCTATCCT ATGCCAAGCC TATTCTTATA GGAATAGGTG TTATACTTTT 1020

GATTGCATTC TTGTTTAAGA TTGTATCATG GCTTCCTGGG AAGAAGAAAA AGAACTAGGA 1080

CATCTGCATC TTCCAGAAGA CGATCCTCTG CCCAATTTAG ATGTGCTCCT GCGTCTTGAT 1140

CATATGGAAT CCAATGAAGG ACCTGATCAA AATCCAGGAG CTGAAAAGAT CTACATTCAA 1200

CTCCAAGCAG TCCCAGGGGA AGCCTCAGAG AAAACTTACA AATTTGGATA TGAAGACAAA 1260

GAGGCACAAA ATCCTGACTT AAAAATGAGA AATTGGGTTC CTAACCCCGA CAAAATGAGT 1320

AAGTGGGCTT GTGCAAGGCT TATTCTTTGT GGACTTTATA ATGCAAAAAA GGCTGGAGAA 1380

CTCTTGGCTA TGGACTATAA TGTTCATGG GAACAATCAA AAGAAGACCC AGGATACTTT 1440

GAAGTGGAAAT ATCACTGTAA AATGTGCATG ACTGTTATTC ATGAACCTAT GCCTATCCAA 1500

TATGATGAAA AACTGGATT ATGGCTAAAA ATGGGTCCCC TTAGGGGAGA TATAGGATCT 1560

## (2) INFORMATION FOR SEQ ID NO: 4:

## (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

(A) LENGTH: 2408 base pairs

(B) TYPE: nucleic acid

(C) STRANDEDNESS: single

(D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: DNA (genomic)

(iii) HYPOTHETICAL: NO

(iv) ANTI-SENSE: NO

## (xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO: 4:

AAGGGGATGT TGAGCAATCC AACATGTGCA TACCCACTTG AATCATCTTA AAACCATGTT	60
ACTAATGAGG AAGATTGACT GGACTTTTAT TAAGAGTGAT TGGATTAAAG AACAACTTCA	120
GAAAACTGAA GATGAAATGA AGATTATTAG AAGAACAGCT AAAAGTTTAG TATATTATGT	180
GACTCAAACA TCATCTTCCA CTACAGCAAC ATCATGGGAA ATTGGAATTT ATTATGAAAT	240
AACTATACCA AAACATATTT ATTTCAATAA TTGGCAAGTT GTTAACATAG GTCATCTGAT	300
TGAGTCAGCT GGTCATTTGA CCTTAATAAG GGTAAACAT CCTTATGAAG ACTTTAATAA	360
AGAATGCACA TATGAACAAT ATTTACATCT TGAAGACTGC ATATCTCAGG ATTATGTGAT	420
TTGTGACAGG GTACAAATAT TGTCACCATG TGGAAACTCA ACAGTAACCA GTGACTGCC	480

TTAGTTTCAC TTTAAGTTAA GTTAGGAATA AGTTCCATAT AATCCTAAGG GAGTATGTGG 600

ACCTTCTTGT TAGGAAATAG TTTAAGATAG TCCACAGCTC CCTTCTTTTT GAGTTCTAGT 660

CTTTGTTAAG TTTGTTGGCT CATACAGATA AAGTGCTCAT TAAACAGGAA ACCGCAACCG 720

GGTAAAGGTT AGCACAGTAA ATTAAGCTAG CAGTTACTCA AGAGCCCGGT AAGCATTCAA 780

GTAGTTCGAA TCCCTTTAAT GCTGACGGAT TGCTCTTTAG TGAGGTGATG TAATCTGTTT 840

TTGCAATCTG AAATGTCTGT TTGCACAGGA AGTTGTACAA GAAAGGGAAT GGCTAAACTT 900

GTTACAGTTC GAACAAACAT TTAGCAATTT CCTTTGCTTT TGGAGTTCGA GCCTTGTA CT 960

TATACTTTGA GCATATGTAT TGTAACACCT AAGTATGGAA AAATCTCCAA GTATGAGTCA 1020

CGAGATGCTT GGCTCACTGC GTTGGACGAC TGGAAAGAAG CTTCAACAGT CGGGACAGCA 1080

TCTCGAAGAA GGCTCCGGA ATGAAAGAGT GAAAAATGAA GTCTCCTCAT TCAGAGAGCC 1140

TTCTTTTAGA ATTCAGGCA GAATAGAGTT TCCAATAGAA TAACTTTTG TATTAGCAGA 1200

TAGATAGGAT ATATAATCTC TGCTTTAGAT TGTACGGGAG CTCACCACTA CTCGCTGCGT 1260

CGAGAGTGTT CGAGTCTCTC CAGGCTTGGT AAGATATAAA CTTTGGTATT CTCTGTATTC 1320

TTATGATCCA ATATTACTCT GCTTATAGAT TGTAATGGGC AATGGCAATG CTTTATCAAT 1380

GAATGATTTT ATGGTGAATT AAGTTCATAT ATGTTTAAAG AAGTTTAAAC ATAAACCGAC 1440

TTAATTCGAG AACCAGATTT ATTAGTATTG TCTCTTTCTA TACTTTAAGT AAAGTGAAAG 1500

GAGTTGTATA TTAGCCTTGC TTATAAGAGC CATCTAGTGG TATAAGTGTG TACTACACTT 1560

ATCTAAA 1667



## (2) INFORMATION FOR SEQ ID NO: 3:

## (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

- (A) LENGTH: 1567 base pairs
- (B) TYPE: nucleic acid
- (C) STRANDEDNESS: single
- (D) TOPOLOGY: linear

## (ii) MOLECULE TYPE: DNA (genomic)

## (iii) HYPOTHETICAL: NO

## (iv) ANTI-SENSE: NO

## (xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO: 3:

TTCCCAATAA ACATCATCCT GGGTGGACTA GACATCTTAC TAAATTCAAG ATATCTAGAT	60
TCTCCACTCC TGCTGATGTC CAGAAAATTG TGGATGAGCT TCTCCCTAGA GGAGCAAGCA	120
TTGTAATGCC TGATGGAACA AAGTATCCAA GTACCAGAAA AGTGCACTTA GTCAATGAAG	180
GAACCCTTGT AGAATACCAA GCCAAATGTA AGGAGATAGA GGAAAAGTAC GGAGGATGCT	240
TTTCTACAGA TAGTGATGAT GACAGTGATG ATTACTCTGA GGATACTCCA GAAACTGAAA	300
CCACTGATGT GGAATAGAGT ACAGTGTTAA GGATTCACAT AATCTGCCTA GCAACTGCTT	360
ATGCTTAAGA ATGAATCAGT ATATTGTTTA GGAATAAGTT ATAGTTTATA AGAAGTTAAT	420
CCTTAGGGAG TATTTGCTGG AAATGACTGA GTGACATGAA GTTTATTCAC CATACTCTCA	480
ATAGGAGCCA CTAGTTGAGC CTGTGCGTTC AAATCCATGC TCAGCTTAAG TGAATCCCTT	540

## (2) INFORMATION FOR SEQ ID NO: 2:

## (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

(A) LENGTH: 423 base pairs

(B) TYPE: nucleic acid

(C) STRANDEDNESS: single

(D) TOPOLOGY: linear

## (ii) MOLECULE TYPE: DNA (genomic)

## (iii) HYPOTHETICAL: NO

## (iv) ANTI-SENSE: NO

## (xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO: 2:

TTACTACAAG GACAATATCC AAAAGGTTTT CCAAAACAAT ATCAATATGA ACTTAATGAA	60
GGACAAGTTA TAGTAACTCG TCCTAATGGA CAAAGAATTA TTCCTCCAAA ATCAGACAGG	120
CCTCAAATTA TTTTGCAAGC ACATAATATT GCACATACAG GAAGAGATTC AACCTTTCTT	180
AAGGTCTCTT CCAAGTATTG GTGGCCAAAT CTTAGAAAGG ATGTGGTTAA AGTTATCAGA	240
CAATGTAAGC AATGTCTGGT CACAAATGCA GCTACCTTAG CTGCGCCTCC AATACTGAGG	300
CCTGAAAGAC CTGTAAAGCC TTTTGATAAA TTTTGTGTTG ACTATATTGG CCCTTTACCC	360
CCTTCTAATA GGTACTTACA TGTCCTTGTA GTAGTCGATG GTATGACTGG ATTTGTATGG	420
TTA	423

(iii) HYPOTHETICAL: NO

(iv) ANTI-SENSE: NO

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO: 1:

TTACTACAAG GACAATATCC AAAAGGTTTT CCAAACAAT ATCAATATGA ACTTAATGAA	60
GGACAAGTTA TAGTAACTCG TCCTAATGGA CAAAGAATTA TTCCTCCAAA ATCAGACAGG	120
CCTCAAATTA TTTTGCAAGC ACATAATATT GCACATACAG GAAGAGATTC AACCTTTCTT	180
AAGGTCTCTT CCAAGTATTG GTGGCCAAAT CTTAGAAAGG ATGTGGTTAA AGTTATCAGA	240
CAATGTAAGC AATGTCTGCT CACAAATGCA GCTACCTTAG CTGCGCCTCC AATACTGAGG	300
CCTGAAAGAC CTGTAAAGCC TTTTGATAAA TTTTGTGTG ACTATATTGG CCCTTTACCC	360
CCTTCTAATG GGTACTTACA TGTCCTTGTA GTAGTCGATG GTATGACTGG ATTTGTATGG	420
TTA	423

## SEQUENCE LISTING

## (1) GENERAL INFORMATION:

## (i) APPLICANT:

- (A) NAME: Centers for Disease Control
- (B) STREET: 1600 Clifton Road
- (C) CITY: Atlanta
- (D) STATE: Georgia
- (E) COUNTRY: USA
- (F) POSTAL CODE (ZIP): 30033
- (G) TELEPHONE: 404-639-1024
- (H) TELEFAX: 404-639-1174

(ii) TITLE OF INVENTION: New Retrovirus Isolated from Humans

(iii) NUMBER OF SEQUENCES: 4

## (iv) COMPUTER READABLE FORM:

- (A) MEDIUM TYPE: Floppy disk
- (B) COMPUTER: IBM PC compatible
- (C) OPERATING SYSTEM: PC-DOS/MS-DOS
- (D) SOFTWARE: PatentIn Release #1.0, Version #1.30 (EPO)

## (2) INFORMATION FOR SEQ ID NO: 1:

## (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

- (A) LENGTH: 423 base pairs
- (B) TYPE: nucleic acid
- (C) STRANDEDNESS: single
- (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: DNA (genomic)

At day 5, amp-reverse transcriptase testing showed a slightly positive signal in the canine thymocyte culture. The amp-reverse transcriptase activity increased over time. (See Figure 2).

5 The activity in control Cf2Th cells that were treated as above, except for exposure to normal PBLs instead of infected PBLs, was shown by the lower line that overlaps the baseline. There was no amp-reverse transcriptase activity inherently in these Cf2Th cells, providing evidence that there was no contamination by a retrovirus or spumavirus by the tissue culture cells.

10

### Example 7

At the peak of amp-reverse transcriptase activity as described in Example 5, cell-free supernatants were transferred to fresh Cf2Th growing at  $2 \times 10^5$  cells/mL. At day 4 in the new culture, cytopathic effects and syncytia was observed. Transmission electron microscopy showed viral particles in and around the cells (See Figure 1). Viral particles were isolated from these cultures and were stored at the Centers for Disease Control and will be deposited at the ATCC.

15

The Cf2Th cells were obtained from the in-house cell culture facility of the Centers for Disease Control, but these cells can also be obtained from the American Type Culture Collection (Rockville, MD). See Mergia et al., et al., "Cell tropism of the simian foamy virus type 1 (SFV-1)," J. Med. Primatol. 1996:25:2-7, for use of these cells.

20

Having thus described the invention, numerous changes and modifications thereof will be readily apparent to those having ordinary skill in the art, without departing from the spirit or scope of the invention.

25

#### Example 4

##### *Western Blot Analysis*

The sera from the three cases was analyzed by western blot analysis against whole cell lysates from Cf2Th cells infected by cell free supernatants from Cf2Th cells infected by a Case's PBLs. As shown in Figure 3, Case A, Case B and Case C all show the characteristic gag proteins associated with the spumavirus. It is interesting to note that in Case B, Case B converted from negative to positive between 1967 and 1978. In addition, spouses of two of the Cases were negative.

#### Example 5

##### *Simian Foamy Virus Isolation*

Peripheral blood lymphocytes (PBLs) were isolated from Cases A, B and C and were cultured with IL-2 for 48 hours, in RPI media with 10% fetal Calf serum, and penn-strep antibiotics. After 48 hours, the PBLs were added to the Cf2Th cells and co-cultured for 2-4 weeks. The cells were in DMEM supplemented with 2% nonessential amino acids, 20% fetal calf serum, and pen-strep antibiotics. 1 mL supernatants were collected from the cell cultures every 3 to 4 days and tested for amp-reverse transcriptase. Procedures for PBL treatment, culturing of Cf2Th cells and amp reverse transcriptase activity were procedures known to those in the art. For example, see Heneine, W., et al. "Detection of reverse transcriptase by a highly sensitive assay in sera from persons infected with HIV-1." (1995). J. infectious Diseases, 171:1201-6.

#### Example 6

Because of the positive amp-reverse transcriptase activity from cells from Case A, peripheral blood lymphocytes from Case A were cultured with IL-2 for 48 hours prior to addition to canine thymocytes (Cf2Th), human lung fibroblasts, and normal human peripheral blood lymphocytes. Supernatants were collected every 3 to 4 days and tested for amp-reverse transcriptase activity. Each time the 1 mL sample of supernatant was taken for amp-reverse transcriptase activity, a 5 mL sample of supernatant was taken and frozen at -80 ° C in order to preserve a sample of the virus producing the amp-reverse transcriptase activity.

## Example 2

### *Case B*

Case B is a research scientist employed for three decades working with biologic specimens from non-human primates. Case B rarely reported injuries involving non-human primate blood, body fluids, or unfixed tissue, but did report an injury in 1970 when an unused needle was stuck through a glove that was potentially contaminated with baboon body fluids; and a 1972 cut inflicted by a broken capillary tube containing chimpanzee blood. Case B is in good health. Case B has been in a monogamous sexual relationship without use of barrier contraceptives or spermicides for over 20 years. Case B's spouse is negative for SFV-like infection by both serologic and PCR testing. Analysis of two serum specimens from Case B archived serially in 1967 were negative; sera archived in 1978 and subsequently were consistently seropositive. See Figure 3, lanes 3 and 4 are the 1967 sera, lane 5 is sera from 1978, lane 6 is sera from 1980, lane 7 is sera from 1981. The sera of Case B's spouse is shown in lane 10.

## Example 3

### *Case C*

Case C is an animal care supervisor who has worked with non-human primates for more than 3 decades. Case C recalls multiple minor injuries and mucocutaneous exposures to non-human primate blood, body fluids, or unfixed tissues. Case C reported a severe baboon bite around 1980 that required multiple stitches of an arm and hand. Case C is in good health except for type II diabetes mellitus. Case C has been in a monogamous sexual relationship for nearly three decades, during which barrier methods of contraception have not been employed and spermicides were used for no more than a 6 month period. Case C's spouse is negative for SFV-like infection by both serologic and PCR testing. Retrospective analysis of sera archived from Case C in 1988 showed the sera to have antibodies to SFV. See Figure 3, lane 8 is Case C's sera from 1988, and lane 11 is sera from the spouse of Case C.

spumavirus from persons exposed to nonhuman primates. The virus does not appear to cause disease and does not appear not transmitted to close household contacts or sexual contacts. This belief is supported by the epidemiology data, the PCR and sequencing data and the serology data.

5           The isolate from Case A, SFVHu-1, was deposited with the ATCC under the Budapest Treaty on February 5, 1998, and was assigned ATCC no. \_\_\_\_\_.

10           The present invention is further described by the examples which follow. Such examples, however, are not to be construed as limiting in any way either the spirit or scope of the present invention. In the examples, all parts are parts by weight unless stated otherwise.

### Example 1

#### *Case A*

15           Case A has intermittently been employed as a caretaker for non-human primates for twenty years between 1961 and 1997. Case A recalled multiple minor injuries and mucocutaneous exposures to non-human primate blood, body fluids, or fresh tissue. In addition, Case A was twice bitten by African green monkeys in the 1960s or early 70s. These injuries were  
20           severe enough to require 7-10 stitches each. Case A is single and in good health. No sera collected from Case A prior to 1995 or from sexual partners are currently available for testing. Retrospective analysis of sera archived from Case A in 1995 showed the sera to have antibodies to SFV. (See Figure 3, lane 2).

25           The western blot of Figure 3 shows whole cell lysate from Cf2Th cells infected with the spumavirus of the present invention tested in each individual lane with different antisera. In Figure 3, particular viral proteins that show infection are the proteins with molecular weight of approximately 70-80 Daltons (p70 gag protein) and the proteins at approximately 130-140  
30           Daltons (an envelope protein). The western blot of Figure 3 shows whole cell lysate from Cf2Th cells infected with the spumavirus of the present invention. These proteins are not detectable in the western blot of Figure 3 by normal sera, (lane 1) but are detectable by antisera from Case A.



and are caused in part by the rapid growth of blood vessels. Another such condition is cancer or tumor growth. Cancer or tumors include both solid tumors and other types. Infection with the virus of the present invention, which causes no disease and does not effect the host systemically, is an improvement over currently known treatments that involved systemically administered agents. Such chemotherapeutic agents kill rapidly dividing cells but also cause trauma to the entire person. The dosages of such chemotherapeutic agents must be titered between killing the cancer and killing the patient.

In contrast, treatments of cancer with the present invention are not as harmful to the patient. The virus can either be administered systemically or injected *in situ* into the tumor. The virus will only replicate in rapidly dividing cells and will not effect cells that are not dividing. The infected cells are killed and tumor growth is stopped. The virus may be administered in one treatment or in a series of treatments.

The SFVHu-1 of the present invention can be recombinantly modified to be selective for cellular receptors on the tumor to make the virus even more specifically targeted to just those cells. Additionally, the virus may have altered promoter regions that can be selectively activated to cause a productive infection. The combination of different levels of control of the virus, both natural and recombinantly produced, are contemplated in the present invention. A virus could be made specific for attachment to only certain types of cellular receptors, for those cells that are dividing, and will only undergo replication if another exogenous promoter factor is present. Viral infection by two or more individually defective viruses, that require factors or promoters supplied by other foamy viruses or any type of virus, could provide for many levels of control of infection or treatment of specific conditions.

The virus may be administered to the host, for cancer treatment, gene therapy or vaccination by any methods known to those skilled in the art. Such methods include but are not limited to injection, inhalation, ingestion, topical administration and implantation. The virus may be killed or live, depending on the treatment considered.

The inventors of the present invention believe that the viruses of the present invention, comprising the isolates from Cases A, B, and C, and particularly Case A, are the first definitive isolation of an SFV-3-like

of the cancer cell marker is incorporated into the foamy virus RNA and after infection with the virus, the expressed gene product stimulates the immune system. The patient's immune system is used to remove the cancerous cells, obviating the need for chemotherapeutic methods.

5           The antibodies of the present invention can be used to detect the presence of the virus or viral particles of the present invention. These antibodies can be used in diagnostic or screening kits to assess the present of the virus. Additionally, the antibodies can be used to screen organs from nonhuman primates that may be used in humans. Detection of the presence  
10 of a virus that is transmitted from nonhuman primates to humans would be crucial in providing virus-free organs for transplantation.

          The virus of the present invention can be used for the treatment of conditions due to the presence of rapidly dividing cells. In a host, the ability of SFVHu-1 to productively infect dividing cells provides an excellent  
15 treatment for conditions due to the presence of rapidly dividing cells. For example, a person with disease due to rapidly dividing cells, including but limited to cancer or any known angiogenic condition, could be infected with SFVHu-1. Such virus may or may not carry other, exogenous genes for other effects in the host. Because SFVHu-1 does not cause disease in the  
20 host and there is no transmission of the virus to contacts with the host, only the person with the condition due to rapidly dividing cells will be treated. In addition, only the rapidly dividing cells of that host person will be productively infected by SFVHu-1. Other cells in the body may be infected but will not be killed because the infection in nondividing cells is not  
25 productive. The virus will productively infect the rapidly dividing cells and kill them. For example, a person with a fast growing tumor would be infected with SFVHu-1 and the cells of the tumor would be destroyed by the virus. Additionally, the virus may be given to a person prior to the person developing a condition caused by dividing cells, and when the cells begin  
30 dividing, the virus would then undergo a productive infection and kill the cells. This therapy may halt or inhibit such conditions as leukemia or angiogenesis dependent diseases such as macular degeneration.

          Such treatment with SFVHu-1 could be used for any condition in which rapidly dividing cells provide an aspect of the pathology of the  
35 condition. One such condition is the presence of uncontrolled angiogenesis within the body. Angiogenesis dependent diseases are well known in the art

defect. Instead of being defective, the gene have been deleted, thus replacement therapy would provide a copy of the gene for use by the cell. The administered normal genes can either insert into a chromosome or may be present as extracellular DNA and can be used to produce normal RNA, leading to production of the normal gene product. In this fashion gene defects and deficiencies in the production of a gene product may be corrected. Still further gene therapy has the potential to augment the normal genetic complement of a cell. For example, it has been proposed that one way to combat HIV is to introduce into an infected person's T cells a gene that makes the cells resistant to HIV infection. This form of gene therapy is sometimes called "intracellular immunization." Genetic material such as a polynucleotide sequence may be administered to a mammal in a viral vector to elicit an immune response against the gene product of the administered nucleic acid sequence. Such gene vaccines elicit an immune response in the following manner. First, the viral vector containing the nucleic acid sequence is administered to a human or animal. Next, the administered sequence is expressed to form a gene product within the human or animal. The gene product inside the human or animal is recognized as foreign material and the immune system of the human or animal mounts an immunological response against the gene product. The virus of the present invention may be used as a viral vector to provide the foreign nucleic acid sequences to the intracellular metabolic processes.

Additionally, gene therapy may be used as a method of delivering drugs *in vivo*. For example, if genes that code for therapeutic compounds can be delivered to endothelial cells, the gene products would have facilitated access to the blood stream. Additionally, cells could be infected with a retroviral vector such as the present invention carrying nucleic acid sequences coding for pharmaceutical agents that prevent infection from occurring in the retrovirally infected cells.

The novel spumavirus of the present invention can also be used a safe and effective vaccine agent. Genetic sequences for immunogenic proteins from a variety of infectious agents can be incorporated into the foamy virus RNA. Once inside a cell, the gene product is expressed and releases the immunizing peptide to the body's immune system. In another method, the virus of the present invention can be used to immunize the body against cell markers found on cancer or tumor cells. The genetic sequence

the presence of this and related viruses for xenotransplantation. In addition, the novel spumavirus of the present invention can be used as a reagent in pathogenicity studies of these and related viruses. Moreover, the sequences of the novel spumavirus of the present invention can be used as probes to  
5 detect virus in biological samples. Vectors include but are not limited to procaryotic, eucaryotic and viral vectors.

Many new and potentially useful technologies are being developed which use viral vectors and may form the basis of future medical cures and therapies. Examples of such technologies include, but are not limited to,  
10 gene replacement, antisense gene therapy, *in situ* drug delivery, treatment of cancer or infectious agents, and vaccine therapy. However, to be successful, these technologies require an effective means for the delivery of the genetic information across cellular membranes.

The recent advent of technology, and advances in the understanding  
15 of the structure and function of many genes makes it possible to selectively turn off or modify the activity of a given gene. Alteration of gene activity can be accomplished many ways. For example, oligonucleotides that are complementary to certain gene messages or viral sequences, known as "antisense" compounds, have been shown to have an inhibitory effect  
20 against viruses. By creating an antisense compound that hybridizes with the targeted RNA message of cells or viruses the translation of the message into protein can be interrupted or prevented. In this fashion gene activity can be modulated.

The ability to deactivate specific genes provides great therapeutic  
25 benefits. For example, it is theoretically possible to fight viral diseases with antisense molecules that seek out and destroy viral gene products. In tissue culture, antisense oligonucleotides have inhibited infections by herpes-viruses, influenza viruses and the human immunodeficiency virus that causes AIDS. It may also be possible to target antisense oligonucleotides  
30 against mutated oncogenes. Antisense technology also holds the potential for regulating growth and development. However, in order for the gene therapy to work, antisense sequences must be delivered across cellular plasma membranes to the cytosol.

Gene activity is also modified using sense DNA in a technique  
35 known as gene therapy. Defective genes are replaced or supplemented by the administration of "good" or normal genes that are not subject to the

prevent replication of SFVHu-1 in humans. Surprisingly, the inventors have found that SFVHu-1 has a high rate of replication in the human host. The virus is found in the peripheral blood lymphocytes (PBL) of the host and is cultured from such cells in tissue culture systems. Reverse transcriptase activity has been found in the PBLs and plasma of the infected host. Viral RNA of SFVHu-1 has been shown by viral RT-PCR in both PBLs and plasma of the infected host. No other foamy virus has shown this activity. The literature has reported that there has been no identification of foamy viral replication in humans, until now, with the present invention, no such replication has been shown.

Virus isolation was attempted by co-culturing the PBLs (peripheral blood lymphocytes) of Case A with Cf2Th canine thymocytes, a cell line known to be permissive for spumavirus infection. See Mergia A. et al., "Cell tropism of simian foamy virus type 1 (SFV-1)," J. Med. Primatol. 1996:25:2-7. Reverse transcriptase activity was detected in co-cultures from the cells exposed to Case A PBLs but not from controls. Transfer of supernatant from the above cells exposed to Case A's PBLs passed this reverse transcriptase activity to uninfected cells, which subsequently showed cytopathic effect (CPE). This finding indicated that the infectious agent in Case A's PBLs was transmitted to tissue culture cells which were used to transfer the infectious agent into other tissue culture cells. Additionally, this indicated that the infectious agent reproduced in the Cf2Th canine thymocytes. DNA-PCR of infected cells was found to be positive for a SFV-like virus. Infected cells showed strong reactivity with all 3 cases' sera by both immunofluorescent assay and western blot and no reactivity with normal sera controls. By electron microscopy, infected Cf2Th cells, derived from cell free supernatants from cells infected by exposure to infected PBLs, showed a morphology characteristic of foamy virus infection (See Figure 1).

The present invention is directed to compositions and methods comprising a new spumavirus, SFVHu-1. The virus was isolated from humans who had worked with nonhuman primates. The new spumavirus, or foamy virus, does not appear to cause any disease in the human hosts. The new virus of the present invention may be an excellent vector for gene therapy and for vaccination purposes. Additionally, the antibodies or other detection methods for detecting the new virus may be important in detecting

The 5' sequenced region of SFVHu-1, shown in Seq ID 3, comprises the LTR (Long Terminal Repeat). In foamy viruses, the LTR aids in the replication of the virus. The LTR is transactivated by a virus-specific protein, and unlike related retrovirus, HIV (Human Immunodeficiency Virus), no human cellular transcription factors activate the virus. LTRs in retroviruses like HIV have conserved consensus sequences for cellular transcription factors.

According to sequence homology, SFVHu-1 Seq ID 3 LTR are stable. There has not been significant change in the sequence even after long passage in a human host. For gene therapy uses, this stability is very important. It also appears that the internal promoter, found in the 3' sequence, Seq ID 4, is also conserved. Thus, the transcriptionally important regions of SFVHu-1 are stable. This indicates that the virus is not acquiring human sequences that would cause it to possibly become virulent or at least cause disease in humans due to introduced mutations. SFVHu-1, because of this stability, is an excellent vector, vaccine or gene therapy agent for humans. This stability is surprising in light of the high instability of the LTR of the virus known as HFV, Human Foamy Virus. HFV was derived from a nasocarcinoma and is now believed not to be a human foamy virus, but a chimpanzee virus. The HFV LTR is unstable and has lots of deletions, thus making it an undesirable vector.

The foamy viruses are unique in that at the 3' end of the env gene there is an internal promoter, IP. ORF 1 codes for a transactivator protein, TAF. TAF activates IP. Once the virus infects the cell, a little TAF is made, this TAF activates the internal promoter IP, which then causes the virus to make lots of TAF. Once sufficient quantity of TAF is made, the TAF functions to initiate the promoter found in the 5' LTR.

ORF 2 has presently unknown function, though it is theorized that it is necessary for replication of the virus *in vivo*. Without all of ORF 2 present, the virus will replicate *in vitro*, but the existing paradigm, prior to the present invention, was that ORF 2 was required for *in vivo* replication. ORF 2 is a putative site for gene insertion. Surprisingly, it has been found in Seq. ID 4, that ORF 2 of SFVHu-1 has multiple stop codons that prevent its translation. SFVHu-1 has a 5 base insertion and a point mutation that prevent accurate translation of ORF 2. According to the existing theory for foamy virus replication *in vitro* discussed above, these mutation should

1301 CTAACCCCGA CAAAATGAGT AAGTGGGCCT GTGCAAGGCT TATTCTTTGT  
1351 GGACTTTATA ATGCAAAAAA GGCTGGAGAA CTCTTGGCTA TGGACTATAA  
5 1401 TGTTC AATGG GAACAATCAA AAGAAGACCC AGGATACTTT GAAGTGGAAT  
1451 ATCACTGTAA AATGTGCATG ACTGTTATTC ATGAACCTAT GCCTATCCAA  
1501 TATGATGAAA AAAGTGGATT ATGGCTAAAA ATGGGTCCCC TTAGGGGAGA  
10 1551 TATAGGATCT GTAGTACATA CTTGTAGAAG GCATTACATG AGATGTTTGT  
1601 CTGCCCTTCC TAGCAATGGA GAACCTCTCA AACCTAGAGT CCGGGCTAAT  
1651 CCTGTCCGAA GATATCGAGA GAAGCAAGAG TTCGTTGCGA CTAGGCCTAA  
15 1701 ACGCTCCAGA TGGGGTGTGG CCCCTAGCGC AGACTCCCAT ACTTCCAGTG  
1751 GTGACGCCAT GGCCCTTATG CCAGGACCAT GCGGCCCTT CGGTATGGAC  
20 1801 ACTCCTGGTT GCTTACTGGA AGGGATACAA GGATCAGGGC CTGGAACCTC  
1851 CGAAATGGCT GTGGCAATGT CAGGAGGACC TTTCTGGGAA GAAGTGTACC  
25 1901 GGGACTCAAT TCCTGGTGCC CCCACTGGGT CTAGTGAAAA TTAGGCTTTA  
1951 TCAAAATCTA ACTGTTGTAA ATGTTTGTGG ATCTGTTGAC CCATGGGAAA  
2001 ATGAGAATCC CACTAGAGGT CGCAGAGGGC CTATGCATAG ATATGATTGT  
30 2051 AGAATTGCTT GTGATCCAAG CTATTGCTTT AAGGCTATTT GGGAAGGAAA  
2101 CTTTTGGGAC AAAAAAAAAA GGATCAGGCA TGCTGGCTAG TTCATCTGAA  
35 2151 AGAAGGACAT AAATTTGGTG CAGATGAGTT ATCTTCTGGG GATCTTAAAA  
2201 TATTAGCAGA ATCTAGACCT TATCCATATG GATCTATTGG TCATTGTGCT  
2251 ATGCTTCAAT ATGCAGTACA AGTTAAAATG AGAGTTGATA GAGCTCCTTT  
40 2301 GACCTCAAAG GTGAGAGCTA TTAAAGCTTT GCACTATCAT CGCTGGAATA  
2351 TTTGTCAGCT GGAAAATCCT GGCATAGGAG AAGGATTCAG TCCCTCTGGT  
45 2401 AATACACA

Seq. IDs 1-4 can be used for all the molecular biological techniques known to those skilled in the art. Such uses include, but are not limited to, generation of probes and vectors containing the sequences, antisense sequences derived from such sequences, and proteins synthesized using the sequences. RNA and other nucleic acid derivatives are contemplated by the present invention.

sequence is identified as Seq. ID 4 and contains 2406 nucleotides. This sequence is analogous to SFV-3 bases 8953 to 11,356.

Seq. ID 4

5 1 AAGGGGATGT TGAGCAATCC AACATGTGCA TACCCACTTG AATCATCTTA  
51 AAACCATGTT ACTAATGAGG AAGATTGACT GGACTTTTAT TAAGAGTGAT  
10 101 TGGATTAAAG AACAACTTCA GAAAACTGAA GATGAAATGA AGATTATTAG  
151 AAGAACAGCT AAAAGTTTAG TATATTATGT GACTCAAACA TCATCTTCCA  
201 CTACAGCAAC ATCATGGGAA ATTGGAATTI ATTATGAAAT AACTATACCA  
15 251 AAACATATTT ATTTGAATAA TTGGCAAGTT GTTAACATAG GTCATCTGAT  
301 TGAGTCAGCT GGTCATTTGA CCTTAATAAG GGTAAACAT CCTTATGAAG  
351 ACTTTAATAA AGAATGCACA TATGAACAAT ATTTACATCT TGAAGACTGC  
20 401 ATATCTCAGG ATTATGTGAT TTGTGACACG GTACAAATAT TGTCACCATG  
451 TGGAAACTCA ACAGTAACCA GTGACTGCCC TGTCACTGCT GAAAAGGTAA  
25 501 AGGAACCATA TATTCAAGTG TCAGCTTTAA AAAATGGAAG CTATTTGGTT  
551 CTAACCAGTA GAACAGATTG CTCAATACCA GCATATGTTC CCAGCATTGT  
601 AACTGTGAAC GAAACAGTTA AGTGTTTTGG GGTGAGTTT CATAAACCAC  
30 651 TATACTCAGA AAGTAAAGTC AGCTTTGAAC CACAAGTTCC ACATCTGAAA  
701 CTACGCTTGC CACATCTGGT TGGGATTATT GCAAGTCTTC AAAATTTGGA  
35 751 AATTGAAGTA ACNAGCACCC AAGAGAGTAT ANAAGATCAG ATTGAAAGAG  
801 TTCAATCACA GCTTCTTCGG CTGGACATTC ACGAGGGAGA CTTTCCTGCT  
851 TGGATTCAAC AACTTGCTTC TGCAACCAAG GACGTCTGGC CTGCAGCTGC  
40 901 TAAAGCTCTT CAAGGCATAG GTAACTTTTT ATCTAATACT GCCCAGGGAA  
951 TATTGGAAC TGCTGTAAGT ATTCTATCCT ATGCCAAGCC TATTCTTATA  
45 1001 GGAATAGGTG TTATACTTTT GATTGCATTC TTGTTTAAGA TTGTATCATG  
1051 GCTTCCTGGG AAGAAGAAAA AGAACTAGGA CATCTGCATC TTCCAGAAGA  
1101 CGATCCTCTG CCCAATTTAG ATGTGCTCCT GGGTCTTGAT CATATGGAAT  
50 1151 CCAATGAAGG ACCTGATCAA AATCCAGGAG CTGAAAAGAT CTACATTCAA  
1201 CTCCAAGCAG TCCCAGGGGA AGCCTCAGAG AAAACTTACA AATTGAGATA  
55 1251 TGAAGACAAA GAGGCACAAA ATCCTGACTT AAAAATGAGA AATTGGGTTC



351 GCAACTGCTT ATGCTTAAGA ATGAATCAGT ATATTGTTTA GGAATAAGTT  
401 ATAGTTTATA AGAAGTTAAT CCTTAGGGAG TATTGGTGG AAATGACTGA  
5 451 GTGACATGAA GTTTATTCAC CATACTCTCA ATAGGAGCCA CTAGTTGAGC  
501 CTGTGCGTTC AAATCCATGC TCAGCTTAAG TGA CTCCCTT TTAGTTTCAC  
551 TTTAAGTTAA GTTAGGAATA AGTTCCATAT AATCCTAAGG GAGTATGTGG  
10 601 ACCTTCTTGT TAGGAAATAG TTTAAGATAG TCCACAGCTC CCTTCTTTTT  
651 GAGTTCTAGT CTTTGTTAAG TTTGTTGGCT CATAACAGATA AAGTGCTCAT  
701 TAAACAGGAA ACCGCAACCG GGTAAGGTT AGCACAGTAA ATTAAGCTAG  
15 751 CAGTTACTCA AGAGCCCGGT AAGCATTCAA GTAGTTCGAA TCCCTTTAAT  
801 GCTGACGGAT TGCTCTTTAG TGAGGTGATG TAATCTGTTT TTGCAATCTG  
20 851 AAATGTGTGT TTGCACAGGA AGTTGTACAA GAAAGGGAAT GGCTAAACTT  
901 GTTACAGTTC GAACAAACAT TTAGCAATTT CCTTTGCTTT TGGAGTTCGA  
951 GCCTTGTACT TATACTTTGA GCATATGTAT TGTAACACCT AAGTATGGAA  
25 1001 AAATCTCCAA GTATGAGTCA CGAGATGCTT GGCTCACTGC GTTGGACGAC  
1051 TGGAAAGAAG CTTCAACAGT CGGGACAGCA TCTCGAAGAA GGCCTCCGGA  
30 1101 ATGAAAGAGT GAAAAATGAA GTCTCCTCAT TCAGAGAGCC TTCTTTTAGA  
1151 ATTTACAGGCA GAATAGAGTT TCCAATAGAA TAACTTTTG TATTAGCAGA  
1201 TAGATAGGAT ATATAATCTC TGCTTTAGAT TGTACGGGAG CTCACCACTA  
35 1251 CTCGCTGCGT CGAGAGTGTT CGAGTCTCTC CAGGCTTGGT AAGATATAAA  
1301 CTTTGGTATT CTCTGTATTC TTATGATCCA ATATTACTCT GCTTATAGAT  
40 1351 TGTAATGGGC AATGGCAATG CTTTATCAAT GAATGATTTT ATGGTGAATT  
1401 AAGTTCATAT ATGTTTTAAG AAGTTTAACA ATAAACCGAC TTAATTCGAG  
45 1451 AACCAGATTT ATTAGTATTG TCTCTTTCTA TACTTTAAGT AAAGTGAAAG  
1501 GAGTTGTATA TTAGCCTTGC TTATAAGAGC CATCTAGTGG TATAAGTGTG  
1551 TACTACACTT ATCTAAA

50

A 3' internal region of SFVHu-1 has also been sequenced. This sequence includes ORF 1 (Open Reading Frame) and ORF-2, which are overlapping genes, and includes 3' sequence from env and bel genes. This

AATGTCTGGTCACAAATGCAGCTACCTTAGCTGCGCCTCCAATACTGAGG  
CCTGAAAGACCTGTAAAGCCTTTTGATAAATTTTTGTGACTATATTGG  
CCCTTTACCCCCTTCTAATGGGTACTTACATGTCCTTGTAGTAGTCGATG  
GTATGACTGGATTTGTATGGTTA

5

## Seq. ID 2

TTACTACAAGGACAATATCCAAAAGGTTTTCCAAAACAATATCAATATGA  
ACTTAATGAAGGACAAGTTATAGTAACTCGTCCTAATGGACAAAGAATTA  
TTCCTCCAAAATCAGACAGGCCTCAAATTATTTTGCAAGCACATAATATT  
GCACATACAGGAAGAGATTCAACCTTTCTTAAGGTCTCTTCCAAGTATTG  
GTGGCCAAATCTTAGAAAGGATGTGGTTAAAGTTATCAGACAATGTAAGC  
AATGTCTGGTCACAAATGCAGCTACCTTAGCTGCGCCTCCAATACTGAGG\*\*  
CCTGAAAGACCTGTAAAGCCTTTTGATAAATTTTTGTGACTATATTGG  
CCCTTTACCCCCTTCTAATAGGTACTTACATGTCCTTGTAGTAGTCGATG  
GTATGACTGGATTTGTATGGTTA

10

15

The relationship between each of the isolates and other known  
spumaviruses is shown in Fig. 5 which is a phylogenetic tree showing the  
percent homology of the nucleotide sequences of these viruses and in Figure  
6.

20

The 5' end of the LTR of SFVHu-1, of 1567 nucleotide bases, has  
also been sequenced, and is shown as Seq. ID 3.

1 TTCCCAATAA ACATCATCCT GGGTGGACTA GACATCTTAC TAAATTCAAG  
51 ATATCTAGAT TCTCCACTCC TGCTGATGTC CAGAAAATTG TGGATGAGCT  
101 TCTCCCTAGA GGAGCAAGCA TTGTAATGCC TGATGGAACA AAGTATCCAA  
151 GTACCAGAAA AGTGCACCTA GTCAATGAAG GAACCCTTGT AGAATACCAA  
201 GCCAAATGTA AGGAGATAGA GGAAAAGTAC GGAGGATGCT TTTCTACAGA  
251 TAGTGATGAT GACAGTGATG ATTACTCTGA GGATACTCCA GAAACTGAAA  
301 CCACTGATGT GGAATAGAGT ACAGTGTTAA GGATTACAT AATCTGCCTA

25

30

35

commonly called simian foamy viruses, or SFV), simian T-lymphotropic viruses (STLV), and simian type D retroviruses. 1,823 samples from 13 institutions in the United States had been tested for simian immunodeficiency virus; samples from 231 of the participating volunteer workers were also tested for other retroviruses from non-human primates. Three of these 231 workers (1.3%) were determined to be infected with a SFV-like virus by serology and PCR.

An immunofluorescent assay that was developed using cells infected with SFV serotype 3 identified antibodies to a SFV-like virus in recently collected serum specimens from all three workers. The 3 specimens were also western blot positive, showing reactivity to both p70 and p74 gag precursor bands of SFV-3 antigen. Repeat testing of additional sera obtained from these 3 workers at later time points are also positive in both assays. (These workers or cases are herein identified individually as Case A, Case B, and Case C.)

Additional blood samples from these three cases were tested for SFV proviral DNA sequences using polymerase chain reaction (PCR) assays employing primer sets from two regions of the polymerase gene that are conserved among known primate foamy viruses. All three cases were PCR positive in both regions. The PCR products from one region were sequenced. The sequences from each case were distinct from each other but all showed greater than 80% homology to known non-human primate foamy virus sequences. The partial sequences, produced with DNA polymerase PCR primer, of the viral sequence of the present invention is shown below. Seq. ID 1 is a viral DNA sequence isolated from infected Cf2Th cells and Seq. ID 2 is a viral DNA sequence isolated from PBLs from Case A. There is 99.76 % homology between the two sequences. The corresponding RNA sequences and resulting proteins can be deduced from these sequences.

Seq. ID 1

TTACTACAAGGACAATATCCAAAAGGTTTTCCAAAACAATATCAATATGA  
ACTTAATGAAGGACAAGTTATAGTAACTCGTCCTAATGGACAAAGAATTA  
TTCCTCCAAAATCAGACAGGCCTCAAATTATTTTGCAAGCACATAATATT  
GCACATACAGGAAGAGATTCAACCTTTCTTAAGGTCTCTTCCAAGTATTG  
GTGGCCAAATCTTAGAAAGGATGTGGTTAAAGTTATCAGACAATGTAAGC

line showing control Cf2Th cells that were co-cultured with normal human peripheral blood lymphocytes, indicating there was no constitutive reverse transcriptase activity in these cultures .

5 Figure 3 is a Western blot of sera from Case A, Case B and Case C and the sera of spouses of two of the cases. The sera was tested against the whole cell lysate from Cf2Th cells infected with the spumavirus isolate. Whole cell lysate of uninfected Cf2Th were used as a control for seroreactivity towards nonviral proteins. In addition, the sera of Case B provides a view of the history of infection because of the existence of Case  
10 B sera obtained in 1967, and in 1978, 1980, and 1981.

Figure 4 is a phylogenetic tree showing the relationships between the sequences of the viruses of the novel spumavirus of the present invention and known spumaviruses.

15 Figure 5 is a comparison of the nucleotide homology of the sequenced portion of the present invention and other retroviruses.

### Detailed Description of the Invention

In response to the identification of simian immunodeficiency virus infection in an occupationally exposed workers, Centers for Disease Control  
20 and National Institutes for Health collaborated in an anonymous serosurvey of persons with similar work exposures. Simian immunodeficiency virus seroreactivity was present in 3/427 (0.64%) stored serum samples from these anonymous workers (See CDC, Anonymous survey for simian immunodeficiency virus (SIV) seropositivity in SIV laboratory researchers  
25 -- United States, 1992. *MMWR Morb Mort Wkly Rep* 1992; 41: 814-5; Khabbaz RF, et al., Brief report: infection of a laboratory worker with simian immunodeficiency virus. *New Eng J Med*. 1994; 330: 172-7). Consequently, a voluntary testing and counseling program was developed that allowed linkage between specific exposures or health outcomes and  
30 serostatus of persons occupationally exposed to simian immunodeficiency virus. The workers enrolled in this voluntary linked prospective simian immunodeficiency virus surveillance are also at occupational risk for exposure to other retroviruses common in nonhuman primates (non-human primates).

35 Therefore, in 1995, the linked surveillance was expanded to include voluntary testing and counseling for exposure to simian spumaviruses (more

It is another object of the present invention to provide a method of detecting a spumavirus.

It is yet another object of the present invention to provide methods and compositions for detecting the presence and amount of spumavirus in a body fluid or organ.

A further object of the present invention is to provide compositions and methods for treating genetic and physiologic disorders using gene therapy techniques comprising the novel spumavirus of the present invention as a vector for nucleic acid sequences and antisense sequences.

Another object of the present invention is to provide compositions and methods useful for manipulating the expression of genes.

Yet another object of the invention is to provide vaccines.

Yet another object of the present invention is to provide compositions and methods for treating viral infections in humans or animals.

Another object of the present invention is to provide compositions and methods that are effective in treating genetic diseases.

Yet another object of the present invention is to provide a method of treating microbial infections in humans or animals.

It is another object of the present invention to provide for treatments of conditions that are caused in part by rapidly dividing cellular growth.

Another object of the present invention is to provide live recombinant virus vaccines.

An object of the present invention is to provide diagnostic tools such as antibodies or antigens for the monitoring of the blood supply or organ and tissue donation for the presence of spumavirus.

These and other features and advantages of the present invention will become apparent after a review of the following detailed description of the disclosed embodiments and the appended claims.

### Brief Description of the Drawings

Figure 1 shows a transmission electron microscope photomicrograph of viral particles in Cf2Th canine thymocytes.

Figure 2 shows tissue culture AMP-reverse transcriptase activity in canine thymocyte cells (Cf2Th) co-cultured with peripheral blood lymphocytes from an infected case worker. Along the baseline is another

The present invention further includes methods and compositions for the use of replicating viral system to kill live dividing cells in a host or *in vitro*. In *in vitro* uses, SFVHu-1 can be used to detect and kill rapidly dividing cells. Foamy viruses, including SFVHu-1, can infect a wide variety of species of cells and can be used in many *in vitro* cell systems. For example, if the assay of the *in vitro* cell system required the identification of quiescent cells, application of SFVHu-1 to the tissue culture system would result in the selection of the rapidly dividing cells by SFVHu-1. The tissue culture cells would be infected, but because SFVHu-1 has a productive infection and cytopathic effects only in dividing cells, the dividing cells are killed by such dividing cells would be infected by SFVHu-1 and killed by such infection. The remaining non-dividing cells of the culture would remain alive.

In a host, the ability of SFVHu-1 to infect dividing cells provides an excellent treatment for conditions due to the presence of rapidly dividing cells. For example, a person with disease due to rapidly dividing cells, such as cancer or any known angiogenic condition, could be infected with SFVHu-1. Such virus may or may not carry other, exogenous genes for other effects in the host. Because SFVHu-1 does not cause disease in the host and there is no transmission of the virus to contacts with the host, only the person with the disease from rapidly dividing cells will be treated. In addition, only the rapidly dividing cells of that host person will be infected by SFVHu-1, and the rest of the body will remain uninfected. The virus will infect the rapidly dividing cells and kill them. For example, a person with a fast growing tumor would be infected with SFVHu-1 and the cells of the tumor would be destroyed by the virus. The SFVHu-1 can be recombinantly modified to be selective for cellular receptors on the tumor to make the virus even more specifically targeted to just those cells.

Such treatment with SFVHu-1 could be used for any condition in which rapidly dividing cells provide an aspect of the pathology of the condition. One such condition is the presence of uncontrolled angiogenesis within the body. Angiogenesis dependent diseases are well known in the art and are caused in part by the rapid growth of blood vessels.

Accordingly, it is an object of the present invention to provide a composition comprising a novel spumavirus.

The present invention also includes methods and compositions for detecting spumavirus in biological fluids. The methods and compositions, including kits, can be in any configuration well known to those of ordinary skill in the art. The present invention also includes antibodies specific for the spumavirus and antibodies that inhibit the binding of antibodies specific for the spumavirus. These antibodies can be polyclonal antibodies or monoclonal antibodies. The antibodies specific for the spumavirus can be used in diagnostic kits to detect the presence and quantity of spumavirus in biological fluids or in organs from nonhuman primates for xenotransplantation. Antibodies specific for spumavirus may also be administered to a human or animal to passively immunize the human or animal against spumavirus, thereby reducing infection after accidental exposure to nonhuman primate bodily fluids.

The present invention also includes compositions and methods, including kits, for detecting the presence and quantity of antibodies that bind spumavirus in body fluids. The methods, including kits, can be in any configuration well known to those of ordinary skill in the art. Such kits for detection of spumavirus itself or detection of antibodies to the spumavirus can be used to monitor the blood supply for the presence of spumavirus in the blood supply.

The present invention also includes methods and compositions comprising recombinant live virus vaccines. The virus of the present invention has areas of its genome that make it ideal for the insertion of exogenous genes. The genes can code for any protein for which vaccination or gene therapy is desired. Because SFVHu-1 replicates at a higher level than other known foamy viruses, it is capable of providing a high level of antigen to the host carrying the virus. After administration of SFVHu-1 to the host, the virus would infect the cells, replicate and provide protein antigens to the immune system of the host. A novel aspect of such recombinant live viruses is that SFVHu-1 does not cause disease in the host organism. Additionally, there is no transmission from one host organism to other non-infected host organisms, even by close contact with exchange of bodily fluids. The recombinant live virus vaccines of the present invention are a safe way to provide antigen in a most optimum method to the immune system.

The novel spumavirus of the present invention has utility as a reagent for the immunological screening of the human population for the prevalence of such viruses in the population. The novel spumavirus of the present invention can also serve as a vector in gene therapy because the virus appears to cause no disease in humans and is not transmitted to other humans. Additionally, the novel spumavirus of the present invention can be used as a reagent in pathogenicity studies of these and related viruses. Moreover, the sequences of the novel spumavirus of the present invention can be used as probes to detect virus in biological samples. Vectors include, but are not limited to, procaryotic, eucaryotic and viral vectors. The foamy virus of the present invention can also be used as a live recombinant virus vaccine. Additionally, the spumavirus of the present invention can be used as a replicating viral system to kill live dividing cells, either *in vitro* or *in vivo*.

The spumaviruses or foamy viruses are by far the least well characterized of the retroviruses. They have been isolated as agents that cause vacuolation ("foaming") of cells in culture from a number of mammalian species, including monkeys, cattle, cats, and reportedly in humans. Persistent infection with these viruses is not associated with any known disease.

Recent studies using improved diagnostic assays have shown no evidence of foamy virus infection of humans in studies of large populations (approximately 8,000 persons). Given these results, the identification of seroreactivity in three persons occupationally exposed to non-human primates is notable. The PCR identification of viral genome sequences in biologic specimens from all three, and isolation of the virus from one, confirm virus infection in these workers.

The present invention includes the isolation and characterization of a spumavirus, SVFHu-1, that was shown to have been transmitted from non-human primates to humans at some point in the past. The retrovirus of the present invention, like another retrovirus of a more virulent nature, HIV-1 (Human Immunodeficiency Virus) The spumavirus of the present invention does not appear to be readily transmitted from human to human. The spumavirus of the present invention can be used in constructing protocols for diagnosing spumavirus infections and may be used as a vector in gene therapy procedures.



96M-0311. Draft Public Health Service (PHS) Guideline on Infectious Disease Issues in Xenotransplantation. Federal Register Vol.61, No. 185. September 23, 1996.). The primary animal species considered as donors for xenografts are baboons and pigs. Thus, what is needed are compositions and methods for detecting viruses that may be transmitted from the nonhuman organ donors to the recipient human. Additionally, information regarding these transmissible agents may provide valuable information about the organ donors' cellular receptors that may be important for transplantation success.

Gene therapies have long looked for a good vector that can transport the foreign gene of choice into human cells. The lack of any known disease associated with the virus of the present invention makes the present invention an ideal candidate for gene therapy regimens. Thus, compositions and methods for gene therapy are needed that use a vector capable of carrying a significant amount of foreign DNA that will enter the host organism and not cause disease.

Compositions and methods for vaccination using recombinant live retroviruses are also needed. A live virus, that causes no illness in humans, and that has genes of antigens of choice incorporated into its genome, would provide for an excellent vaccination tool. The retrovirus would reproduce in the human host and expose the immune system to antigens so that an immune response can be initiated.

Targeted attack on reproducing cells is a goal of cancer treatment. What is needed is are compositions and methods for cancer treatment that are specific for dividing cells that do not cause systemic damage to the cancer patient. A virus that could infect and kill dividing cells, without killing other cells of the host would provide a solution for cancer treatment.

### Summary of the Invention

The present invention is directed to compositions and methods comprising a novel spumavirus or foamy virus, known as SVFHu-1. The present invention comprises a spumavirus isolate of human origin that has been definitively isolated from a human with no disease. The novel spumavirus of the present invention has been maintained through tissue culture cells where it causes the characteristic vacuolation of the cells that is known for foamy viruses.

lacked definitive evidence of human infection and were not subsequently confirmed. (See Heneine W, et al., Absence of evidence for human spumaretrovirus sequences in patients with Graves' disease [letter]. J Acq Immune Defic Synd & Human Retrov. 1995; 9: 99-101; Simonsen L, et al., Absence of evidence for infection with the human spumaretrovirus in an outbreak of Meniere-like vertiginous illness in Wyoming, USA [letter]. Acta Oto-Laryngologica 1994; 114: 223-4; and Heneine W., et al., Lack of evidence for infection with known human and animal retroviruses in patients with chronic fatigue syndrome. Clin Infect Dis 1994; 18: S121-5).

To the knowledge of the inventors, there has not been a documented, definitive isolation of a spumavirus, such as the one of the present invention, from humans. Previous reports of human spumavirus isolates are now widely regarded as laboratory contaminants.

Recent publications indicate that earlier serological tests showing human spumavirus antibodies in the human population were incorrect. Immunological investigation of a previously reported human spumavirus revealed that it shared common antigens in complement fixation, immunofluorescence and neutralization assays with the chimpanzee foamy virus, SFV-6. Furthermore, failure to detect serological evidence of HFV infection in people from a wide geographical area suggested that this virus isolate was a variant of SFV-6, particularly since sera from chimpanzees naturally infected with SFV-6 neutralized both viruses. In a survey for prevalence of human foamy virus in more than 5000 human sera, collected from geographically diverse populations, none of the serum samples were confirmed as positive. Taken together with sequence analysis endorsing the phylogenetic closeness of the purported human spumavirus to SFV-6/7, these data strongly suggest that human foamy virus is not naturally found in the human population. (See Ali, M. et al., "No Evidence of Antibody to Human Foamy Virus in Widespread Human Populations," AIDS Research and Human Retroviruses, Vol. 12, No. 15, 1996.)

Recent concern that xenotransplantation, the use of living tissues from nonhuman species in humans for medical purposes, may introduce new infections into the human community has increased the importance of defining the ability of simian retroviruses to infect and/or cause disease in humans (See Chapman LE, et al. Xenotransplantation and xenogeneic infections. New Engl J Med 1995; 333: 1498- 1501; DHHS. Docket No.

immunodeficiency virus. New Eng J Med. 1994; 330: 172-7; Khabbaz RF, et al. Simian immunodeficiency virus needlestick accident in a laboratory worker. Lancet 1992; 340: 271-3; and CDC. Guideline to prevent simian immunodeficiency virus infection in laboratory workers and animal handlers. MMWR 1988; 37:693-704.) In addition to SIV, nonhuman primate species used in biomedical research are commonly infected with SFV (simian foamy virus), STLV (simian t-cell lymphotropic virus), and/or type D retroviruses. All of these retroviruses cause lifelong infections in nonhuman primates, and some are known to be transmissible through sexual contact, blood, or breast feeding. Natural SFV infections in non-human primates have not been definitively associated with disease. In non-human primates, infection with the other retroviruses may result in a clinical spectrum ranging from asymptomatic infection to life threatening immunodeficiency syndromes or lymphoproliferative disorders. The transmission routes of SFVs among non-human primates remain undefined, but the prevalence of seroreactivity is high among captive adult non-human primates.

Studies of the prevalence of spumavirus infection of humans are limited and the findings are not definitive. Though there is some evidence of human infection with SFV (antibodies and positive PCR results), such occurrence has been reported in only two persons, both of whom had occupational risks for infection. Associated disease was not reported in either. (See Schweizer M., et al. Absence of foamy virus DNA in Graves' disease. AIDS Res & Human Retrov 1994; 10: 601-5; Neumann-Haefelin D, et al., Foamy viruses. Intervirology 1993; 35: 196-207; and Schweizer M, et al., Markers of foamy virus infections in monkeys, apes, and accidentally infected humans: appropriate testing fails to confirm suspected foamy virus prevalence in humans. AIDS Res & Human Retrov 1995; 11: 161-70.) There have been no published reports that virus was ever isolated from these infected individuals.

Other inconclusive evidence was seen in early studies which described a relatively high rate of seroreactivity to antibodies to spumaviruses among human populations not known to be exposed to non-human primates. In some instances seroreactivity was suggestively linked to human disease, including disorders of the central nervous system, thyroid disease, and Chronic Fatigue Syndrome. In most instances these studies

5

10

## NEW SPUMAVIRUS ISOLATED FROM HUMANS

### Technical Field

15

The present invention relates to a novel retrovirus, a spumavirus, that has been isolated from humans. More particularly, the novel spumavirus may be used as a vector for gene therapy. The novel spumavirus may also be used as a recombinant live virus vaccine.

### Background of the Invention

20

Spumavirus, also known as foamy virus for the characteristics of vacuolization the virus induces in cell culture, belongs to a distinct group of retroviruses. The simian foamy viruses (SFVs) include isolates from Old World and New World monkeys and are classified into 10 different serotypes based on serological cross-reactivities. Virus appears to persist in the host for a long period of time in a latent form and can exist in the presence of neutralizing antibody.

25

30

35

Currently the most studied retrovirus, Human Immunodeficiency Virus, is believed to be derived from nonhuman primate transmission into humans at some past time. Concerns about the risk of transmission of retroviruses from non-human primates to humans working in research laboratories were heightened in the early 1990's when two persons developed antibodies to SIV (Simian Immunodeficiency Virus) following work-related exposures, one of whom had clear evidence of persistent viral infection. (See CDC. Anonymous survey for simian immunodeficiency virus (SIV) seropositivity in SIV laboratory researchers -- United States, 1992. MMWR Morb Mort Wkly Rep 1992; 41: 814-5; Khabbaz R.F., et al. Brief report: infection of a laboratory worker with simian

**FOR THE PURPOSES OF INFORMATION ONLY**

Codes used to identify States party to the PCT on the front pages of pamphlets publishing international applications under the PCT.

AL	Albania	ES	Spain	LS	Lesotho	SI	Slovenia
AM	Armenia	FI	Finland	LT	Lithuania	SK	Slovakia
AT	Austria	FR	France	LU	Luxembourg	SN	Senegal
AU	Australia	GA	Gabon	LV	Latvia	SZ	Swaziland
AZ	Azerbaijan	GB	United Kingdom	MC	Monaco	TD	Chad
BA	Bosnia and Herzegovina	GE	Georgia	MD	Republic of Moldova	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagascar	TJ	Tajikistan
BE	Belgium	GN	Guinea	MK	The former Yugoslav Republic of Macedonia	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Greece	ML	Mali	TR	Turkey
BG	Bulgaria	HU	Hungary	MN	Mongolia	TT	Trinidad and Tobago
BJ	Benin	IE	Ireland	MR	Mauritania	UA	Ukraine
BR	Brazil	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Iceland	MX	Mexico	US	United States of America
CA	Canada	IT	Italy	NE	Niger	UZ	Uzbekistan
CF	Central African Republic	JP	Japan	NL	Netherlands	VN	Viet Nam
CG	Congo	KE	Kenya	NO	Norway	YU	Yugoslavia
CH	Switzerland	KG	Kyrgyzstan	NZ	New Zealand	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Democratic People's Republic of Korea	PL	Poland		
CM	Cameroon	KR	Republic of Korea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kazakstan	RO	Romania		
CU	Cuba	LC	Saint Lucia	RU	Russian Federation		
CZ	Czech Republic	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DE	Germany	LK	Sri Lanka	SE	Sweden		
DK	Denmark	LR	Liberia	SG	Singapore		
EE	Estonia						

**PCT**WORLD INTELLECTUAL PROPERTY ORGANIZATION  
International Bureau

## INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

<b>(51) International Patent Classification <sup>6</sup> :</b> <b>C12N 7/00, 15/86, A61K 48/00</b>	<b>A1</b>	<b>(11) International Publication Number:</b> <b>WO 98/35024</b> <b>(43) International Publication Date:</b> 13 August 1998 (13.08.98)
<b>(21) International Application Number:</b> PCT/US98.02598 <b>(22) International Filing Date:</b> 12 February 1998 (12.02.98)  <b>(30) Priority Data:</b> 08:798,071      12 February 1997 (12.02.97)      US  <b>(63) Related by Continuation (CON) or Continuation-in-Part (CIP) to Earlier Application</b> US      Not furnished (CIP) Filed on      Not furnished  <b>(71) Applicant (for all designated States except US):</b> THE GOVERNMENT OF THE UNITED STATES OF AMERICA, represented by THE SECRETARY, DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES, Office of Technology Transfer Centers for Disease Control and Prevention [US/US]; Executive Park, Building 4, Suite 1103, M/S E-67, Atlanta, GA 30329 (US).  <b>(72) Inventors; and</b> <b>(75) Inventors/Applicants (for US only):</b> SANDSTROM, Paul, A. [CA/US]; 2749 Ashwood Place, Decatur, GA 30030 (US). BROWN, Jennifer [US/US]; 1140 Columbine Street #103, Denver, CO 80206 (US). FOLKS, Thomas, M.		<b>[US/US];</b> 3815 Bell Glade Trail, Lithonia, GA 30058 (US). HENEINE, Walid [LB/US]; 2001 Hollidon Road, Decatur, GA 30033 (US). SWITZER, William, M. [US/US]; 820 Stephenson Ridge, Stone Mountain, GA 30087 (US).  <b>(74) Agents:</b> MERCHANT, Mary. Anthony et al.; Jones & Askew, LLP, 37th floor, 191 Peachtree Street, N.E., Atlanta, GA 30303 (US).  <b>(81) Designated States:</b> AU, CA, JP, US, European patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).  <b>Published</b> <i>With international search report.</i> <i>Before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of the receipt of amendments.</i>
<b>(54) Title:</b> NEW SPUMAVIRUS ISOLATED FROM HUMANS  <b>(57) Abstract</b>  The present invention comprises spumavirus isolated from humans. More specifically, the spumavirus of the present invention was isolated from humans who had exposure to nonhuman primates. Importantly, the spumavirus of the present invention or antibodies to the spumavirus can be used to detect the presence of spumavirus or antibodies in body fluids, for pathogenicity studies of related viruses, and as a vector for gene therapies. The spumavirus of the invention can also be used for treatment of conditions in humans due to the presence of rapidly dividing cells and for recombinant live virus vaccination.		

Unser Zeichen: K 2769 - sch / msl

## **FV-Vektoren zur Expression von Fremdgenen in Säugern und deren Verwendung**

Die vorliegende Erfindung betrifft retrovirale, auf Foamy  
5 Virus (FV)/Spumavirus basierende Vektoren zur Einführung einer  
gewünschten, exprimierbaren DNA in Säugerzellen und  
Säugetiere, wobei der retrovirale Vektor folgende Sequenzen  
umfaßt: Eine erste DNA-Sequenz, die dem reversen Transkript  
eines Teils eines felines FV (FeFV) entspricht, und eine  
10 zweite DNA-Sequenz, die die Propagation in Bakterien erlaubt.  
Die vorliegende Erfindung betrifft auch diese Vektoren  
enthaltende Arzneimittel.

Retroviren sind RNA-Viren, bei denen die viralen Gene von  
15 einem einzelsträngigen RNA-Molekül codiert werden. Nach  
Eintritt in die Wirtszelle wird die virale RNA über reverse  
Transkription in ein doppelsträngiges DNA-Molekül umgewandelt,  
im Anschluß daran gelangt diese DNA in den Nucleus und  
integriert sich in das Wirtsgenom als sogenanntes Provirus,  
20 das wiederum die Matrize für die Expression viraler Gene und  
die Synthese von Virion-RNA ist. Die viralen Genprodukte und  
die Virion-RNA lagern sich zu einem intakten Virion zusammen,  
das dann die Zelle wieder verlassen und neue Zellen infizieren  
kann. In der Vergangenheit konnte gezeigt werden, daß es  
25 mittels Retroviren möglich ist, Fremd-DNA in einen gewünschten  
Organismus einzuschleusen und dort auch zur Expression zu  
bringen. Somit bieten sich Retroviren grundsätzlich als  
Vehikel für eine Gentherapie an. Allerdings waren die damit  
bisher erzielten Erfolge noch nicht zufriedenstellend, da in  
30 der Regel die bei der Behandlung von Tieren bzw. Menschen  
verwendeten retroviralen Vektoren nur eine geringe Effizienz  
aufweisen. Besonders die qualitativ ungenügende und zeitlich  
limitierte Expression des therapeutischen Gens stellen  
wesentliche Limitierungen der derzeitigen retroviralen  
35 Vektoren dar (Anderson 1998, Nature 392, 25).





Somit liegt der Erfindung im wesentlichen das technische Problem zugrunde, einen viralen Vektor bereitzustellen, mit dem effizient heterologe Gene in einen gewünschten Säuger, beispielsweise Katze oder Mensch, eingeführt und effizient exprimiert werden können.

Die Lösung dieses technischen Problems wurde durch die Bereitstellung der in den Patentansprüchen gekennzeichneten Ausführungsformen erreicht.

Es konnte gezeigt werden, daß mittels eines auf einem feline Foamyvirus (FeFV) basierenden Vektors gewünschte heterologe Gene effizient in einen gewünschten Säuger eingeführt werden können und dort auch exprimiert werden. Die Vorteile eines auf dem feline FV basierenden Vektors beruhen vermutlich auf dessen Replikationsmechanismus, der sich von dem anderer Retroviren unterscheidet. Beispielsweise weisen FeFV einen internen Promotor zur Expression der regulatorischen "bel"-Gene auf, die für die Replikation des Virus erforderlich sind. Die Expression der "Pol"-Proteine erfolgt zudem über eine gespleißte RNA und nicht als Teil eines "Gag-Pol"-Fusionsproteins. Da das FeFV eine produktive und lebenslang persistierende Infektion der Katze mit permanenter Antigenexpression induziert, verfügt das FeFV intrinsisch über Mechanismen, die oben genannten Mängel bekannter Vektoren zu überkommen. Weiterhin sind Spumaviren physikalisch relativ stabil (minimale Titerreduktion bei Lagerung bei 4°C), sie weisen eine geringe genetische Variation auf, haben eine hohe Insertionskapazität und gelten als apathogen; Charakteristika, die die Anwendung als retrovirale Vektoren begünstigen.

Zur Herstellung eines beispielhaften Vektors wurde das gesamte Genom von feline FV (FeFV) von den Nukleotidpositionen 17 bis zum 3'LTR in den prokaryontischen Vektor pAT153 in sequentiellen Schritten zwischen die EagI-(5'LTR) und die ClaI-(3'LTR) Restriktionsschnittstellen eingefügt. Am 5'-Ende des viralen DNA-Inserts befinden sich dabei verschiedene eingefügte Restriktionsschnittstellen. Diese rekombinante DNA



ist z.B. in E. coli K12 genetisch stabil. Die biologische Aktivität der rekombinanten FeFV-DNA (Expression infektiöser Virionen) wurde nach Transfektion in permissive Zellen (CRFK) überprüft und es zeigte sich, daß infektiöse Virionen gebildet wurden. Diese unterschieden sich in ihrer Genexpression nicht von dem Ausgangsisolat (nicht-kloniertes FeFV). Darüber hinaus konnte gezeigt werden, daß bei Verwendung dieses viralen Vektors, bei dem DNA-Sequenzen, die für Neutralisations-relevante Epitope des Env-Oberflächenproteins eines serologisch distinkten, genetisch verschiedenen FeFV-Isolats insertiert wurden, diese heterologen Domänen in transfizierten Zellen in funktionell aktiver Weise exprimiert wurden.

Somit betrifft eine Ausführungsform der vorliegenden Erfindung einen retroviralen Vektor zur Einführung einer gewünschten, exprimierbaren DNA in eine Säugerzelle, wobei der retrovirale Vektor folgende Sequenzen umfaßt: Eine erste DNA-Sequenz, die dem reversen Transkript mindestens eines Teils eines feline FV-Genoms entspricht, und eine zweite DNA-Sequenz, die die Propagation in Bakterien und somit die effiziente und gerichtete genetische Modifikation erlaubt.

Ein weiterer Bestandteil des Vektors ist ggf. eine gewünschte, exprimierbare Fremd-DNA/therapeutisches Gen.

Der hier verwendete Ausdruck "...reverses Transkript mindestens einem Teil eines FV-Genoms entsprechend" betrifft jede FV-DNA, die noch in der Lage ist, alle Funktionen des FV-Vektors, die für die Insertion der Fremd-DNA und deren Expression nötig sind, zu gewährleisten.

Der hier verwendete Ausdruck "Sequenz, die die Propagation in Bakterien erlaubt", betrifft Sequenzen, die einen "ori" für die Replikation in Bakterien, ein Markergen und/oder Resistenzgen enthalten. Beispielsweise kann eine solche Sequenz aus pAT153 (Twiggs und Sherratt, 1980, Nature 283, S. 216) stammen.



Von den Erfindern wurde herausgefunden, daß zwei Arten von genetischer Modifikation bzw. Vektortypen vorteilhaft sind:

- 1) selbst-replizierende, replikationskompetente Vektoren, bei denen die Insertion heterologer Gene die Replikationsfähigkeit nicht beeinträchtigen und die im therapeutischen Wirt replizieren können. Bei den selbst-replizierenden Vektoren ist keine Packaging-Zelllinie oder ein Helfervirus notwendig;
- 2) replikationsdefekte Vektoren, bei denen z.B. die gesamten Strukturgene (gag, env, pol) durch die Fremd-DNA ersetzt wurden. Die Virionenbildung erfolgt in sog. Packaging-Zelllinien, die alle deletierten Funktionen in trans zur Verfügung stellen (gag, env, pol). In diesen Vektoren sind die für die Verpackung der Genome und Expression der Fremd-DNA notwendigen cis-Sequenzen erhalten.

Spumaretroviren/Foamyviren gelten allgemein als apathogen, obschon sie unter bestimmten experimentellen (artifizialen) Bedingungen (transgene Mäuse) Krankheiten auslösen können. Die "apparente Apathogenität" von Foamyviren ist einer ihrer großen Vorteile als retroviraler Vektor. Bei allen selbst-replizierenden FeFV-Vektoren sollte jedoch bevorzugt der starke Bel 1-Transaktivator zumindest funktionell inaktiviert, vorzugsweise aber komplett deletiert sein.

Die in die erfindungsgemäßen Vektoren einbringbare Fremd-DNA unterliegt keiner Beschränkung und es sind prinzipiell alle Krankheits-relevanten Gene möglich. Beispiele für Fremd-DNA (auch heterologe Gene oder therapeutische Gene genannt) sind

- Immunmodulatorische Gene zur Aktivierung oder Suppression von Immunreaktionen im Zuge von Anti-Krebstherapien, z.B. Interleukin-2, -1, -10 etc., gamma-Interferon, Tumor Nekrosis Faktor, spezielle Tumorentigene
- Suizidgene zur spezifischen Destruktion der entsprechend infizierten Zellen, z.B. HSV Thymidin-Kinase, E. coli Cytosin Deaminase, Polynukleosid-Phosphorylase



- funktionell intakte Gene zur Substitution funktionell defekter Gene im Zuge der somatischen Gentherapie,
- Expression von trans-dominant negativen Mutanten-Proteinen, die inhibitorisch im Rahmen der "pathogen derived resistance" oder "intrazellulären Immunisierung" eingesetzt werden,
- Gene, deren Proteinprodukt aus transgenen Tieren in geeigneter Form in technisch/industriellem Maßstab isoliert und gereinigt werden kann, z.B. Faktor X der Blutgerinnung oder dgl.

Erfindungsgemäß handelt es sich bei dem retroviralen FV-Vektor um einen Vektor bei dem das Genom des felines Foamyvirus (FeFV) verwendet wurde. Dabei kann es sich um einen Vektor handeln, bei dem die erste DNA-Sequenz die FV-DNA-Sequenz des Vektors FeFV-7 ist. Dieser Vektor wurde als Plasmid pFeFV-7 bei der DSMZ, Mascheroder Weg 1b, 38124 Braunschweig am 23. November 1998 unter DSM 12514 hinterlegt.

Die erste DNA-Sequenz des Vektors kann sich jedoch von der DNA-Sequenz des Vektors pFeFV-7 unterscheiden und lediglich von ihr abgeleitet sein. Der FeFV-Anteil des Plasmids kann beispielsweise in der Weise modifiziert sein, daß er entsprechend den Anforderungen des Vektorkonzepts (selbst-replizierender oder replikationsdefekter Vektor) genetisch verändert wird und die Fremd-DNA (oben auch als heterologes Gen bzw. therapeutisches Gen bezeichnet) unter der transkriptionellen Kontrolle des FeFV oder eines heterologen Promotors insertiert wird. Beispielsweise kann sich die erste DNA-Sequenz auch von der des erfindungsgemäßen Vektors pFeFV-7 bezüglich der Länge unterscheiden, oder verschiedene Nukleotidadditionen, -deletionen oder substitutionen aufweisen, beispielsweise von einem anderen Feldisolat von FeFV stammen, solange die gewünschten Eigenschaften des Virus, beispielsweise hinsichtlich Infektiosität, Replikation, Insertion und Expression der Fremd-DNA für die gewünschten erfindungsgemäßen Zwecke erhalten bleiben. Der Fachmann kann





mittels üblicher Methoden, beispielsweise den in den nachfolgenden Beispielen oder in Winkler et al., J.Virol. 71 (1997), 6727-6741, angegebenen Verfahren bestimmen, ob die für die Herstellung des retroviralen FeFV-Vektors verwendete DNA-Sequenz noch die erforderlichen Bedingungen erfüllt. Darüber hinaus können allgemeine, auf dem Fachgebiet bekannte Verfahren zur Konstruktion der erfindungsgemäßen retroviralen Vektoren verwendet werden. Zu diesen Verfahren zählen beispielsweise übliche in vitro-Rekombinationstechniken, synthetische Verfahren, sowie in vivo-Rekombinationsverfahren.

Die gewünschte, zu exprimierende Fremd-DNA kann an jeder Stelle des FV-Genoms inseriert werden, vorausgesetzt, daß dadurch deren Expression gewährleistet ist, sowie die gewünschten Eigenschaften des FV (beispielsweise selbst-replizierender oder replikationsdefekter Vektor) erhalten bleiben. Prinzipiell kann die Fremd-DNA an jeder Stelle des FeFV-Genoms inseriert werden. Es sollte allerdings so sein, daß der FeFV-Anteil immer noch in dem oben angesprochenen Sinne (selbst-replizierender/replikations-defekter Vektor) aktiv ist. Vorzugsweise wird die Fremd-DNA-Sequenz zwischen den 5'LTR-Bereich und den 3'LTR-Bereich inseriert. Bei selbst-replizierenden Vektoren können heterologe Sequenzen in die Gag, Env und Bel2-Gene bzw. in definierte Teile der 3'-LTR eingefügt werden, bei replikations-defekten Vektoren werden bevorzugt die Gag, Pol, Env und akzessorischen/regulatorischen Gene durch die zu exprimierende Fremd-DNA ersetzt. Um eine effiziente Expression der Fremd-DNA-Sequenz zu erhalten, ist es erforderlich, diese so in den FV-Vektor zu inserieren, daß sie mit geeigneten transkriptionellen Kontrollsequenzen funktionell verknüpft vorliegt. Geeignete, für die Expression in Säugern geeignete Kontrollsequenzen (d.h. Promotor- und/oder Enhancer-Sequenzen) sind dem Fachmann bekannt. Als Promotoren sind die dem Fachmann bekannten Promotoren verwendbar. Diese umfassen beispielsweise

- den genetisch modifizierten FeFV LTR-Promotor oder den internen Promotor
- konstitutiv aktive Promotoren, z.B. HSV-tk, CMV-IE



- zelluläre housekeeping Promotoren, z.B. beta-Actin, GADPH
- zelltyp-spezifische Promotoren für die Expression in haematopoetischen Zellen, dem ZNS, der Leber, Niere etc.
- induzierbare Promotoren, z.B. Insulin-, Corticoid-, Stress-, Östrogen-abhängige Promotoren
- virus-aktivierbare Promotoren, z.B. HIV LTR für intrazelluläre Immunisierungen
- Promotoren, die durch etablierte Therapeutika aktiviert werden (Tamoxifen etc.)

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform enthält der retrovirale FV-Vektor außerdem ein Gen, das einen nachweisbaren phänotypischen Marker codiert. Dies erlaubt die Überprüfung einer erfolgreich verlaufenen Transformation der gewünschten Zielzelle. Geeignete Markergene sind beispielsweise:

- $\beta$ -Galactosidase
- Resistenzgene gegen Neomycin, Hygromycin, Zeonin etc.
- (humanisiertes) green fluorescent Protein GFP

Die vorliegende Erfindung betrifft ferner ein Plasmid, das den erfindungsgemäßen FeFV-Vektor enthält. Das Plasmid kann beispielsweise in E. coli, z.B. E. coli JM 109 oder DH5 $\alpha$ , vermehrt werden und aus diesen direkt isoliert werden.

Verfahren zur Transformation der Zellen zur Herstellung des erfindungsgemäßen FV-Vektors (beispielsweise über CaPO<sub>4</sub>-Präzipitation, Liposomen oder Elektrotransformation etc.) und zur phänotypischen Selektion von Transformanten sind auf dem Fachgebiet bekannt.

Nach erfolgter Vermehrung können die erfindungsgemäßen FV-Vektoren in eine Zelle, ein Gewebe, Organ, einen Patienten oder ein Tier durch eine Reihe von Verfahren eingeführt werden. Das FeFV (und somit auch das davon abgeleitete Plasmid



pFeFV-7) kann in Zellen humanen Ursprungs replizieren. Das das FeFV diese humanen Zellen auch infizieren kann, sind keine absolut essentiellen Veränderungen des Plasmids pFeFV und seiner Derivate für die Replikation und Applikation in humanen Zellen und den Menschen notwendig. Für die ex-vivo Applikation kommen die vorgenannten Verfahren sowie Co-Kultivierung mit Vektor-produzierenden Zellen und direkte Infektion mit dem retroviralen Vektor in Frage. Für die in-vivo Applikation kommen in Frage: als DNA durch die Gen-Gun; Liposomen-Technik; als freies Retrovirus systemisch (z.B. intravenös), lokal (z.B. direkt in einen Tumor oder das lymphatische Organ) oder in Form eines Aerosols für den Respirationstrakt. Es können analog auch die Vektor-produzierenden Zellen verabreicht werden.

Somit betrifft die vorliegende Erfindung auch Zellen und transgene Tiere (d.h. Säuger, die bezüglich der mittels des erfindungsgemäßen FV-Vektors eingeschleusten DNA-Sequenz transgen sind). Verfahren zur Herstellung solcher transgener Tiere können beispielsweise in WO 91/08216 oder Schenkel, Johannes, 1995, Transgene Tiere, Spektrum Akad. Verlag, Heidelberg gefunden werden.

Die vorliegende Erfindung betrifft ferner Arzneimittel, die die vorstehend beschriebenen FV-Vektoren enthalten. Diese Arzneimittel enthalten gegebenenfalls zusätzlich einen pharmazeutisch verträglichen Träger. Geeignete Träger und die Formulierung derartiger Arzneimittel sind dem Fachmann bekannt. Zu geeigneten Trägern zählen beispielsweise Phosphat-gepufferte Kochsalzlösungen, Wasser, Emulsionen, beispielsweise Öl/Wasser-Emulsionen, Netzmittel, sterile Lösungen etc. Die Art des Trägers hängt natürlich davon ab, wie der erfindungsgemäße FV-Vektor verabreicht werden soll. Die geeignete Dosierung wird von dem behandelnden Arzt bestimmt und hängt von verschiedenen Faktoren ab, beispielsweise von dem Alter, dem Geschlecht, dem Gewicht des Tiers bzw. Patienten, dem Schweregrad der Erkrankung, der Art der Verabreichung etc..



Der erfindungsgemäße FV-Vektor kann beispielsweise auch für die Expression von DNA-Sequenzen, die für neutralisierende Epitope pathogener Erreger codieren, verwendet werden, d.h. er kann für eine Vakzinierung gegenüber diesen Erregern verwendet werden. Dies ist vor allem hinsichtlich solchen infektiösen Erkrankungen, beispielsweise bei Katzen, interessant, für die bisher keine geeigneten Impfstoffe zur Verfügung standen. In diesem Zusammenhang ist zu beachten, daß es sich bei den exprimierten Epitopen um therapeutische (immunologisch) wirksame Domänen handelt und die Vakzinierung nicht z.B. zu einer Immunpathogenese bei nachfolgender Virus-Challenge führt. Beispielsweise kann die Fremd-DNA-Sequenz für neutralisierende Epitope des feline Immundefizienzvirus (FIV) codieren. Dabei wird ein FV-Vektor erhalten, der die effiziente Vakzinierung von Katzen gegenüber FIV erlaubt. Andere geeignete Fremd-DNA sind virale Env-Oberflächendomänen oder T-Zellepitope von viralen Struktur- oder Nichtstrukturproteinen. Wie bereits oben ausgeführt ist die Verwendung der erfindungsgemäßen Gegenstände aber keineswegs auf die Vakzinierung beschränkt, sondern stellt allgemein ein Vehikel für die Gentherapie dar.

Um die Praktikabilität von FeFV-basierten Vektoren zu demonstrieren, wurden die für die Virus-Neutralisation relevanten Epitope des von den Erfindern verwendeten Isolats FUV durch die entsprechenden Sequenzen eines Isolats 951-ähnlichen FeFV-Virus (Flower et al., 1985, Arch. Virol. 83, S. 53) ausgetauscht. Das genetisch modifizierte Virus ist replikationskompetent und wird aufgrund des Austausches von Neutralisations-relevanten Epitopen nicht mehr durch Seren gegen das FeFV-FUV-Isolat neutralisiert werden. Dieses genetisch modifizierte, nun 951-ähnliche FeFV kann eventuell aufgrund seiner distinkten immunologischen Charakteristika in Katzen (oder Menschen) dann als gentherapeutischer Vektor eingesetzt werden, wenn bereits eine humorale Immunität gegen den ursprünglichen, FUV-ähnlichen Vektor, vorliegt. Eine solche Situation kann vorliegen, wenn der therapeutische Einsatz des Vektors wiederholt durchgeführt werden muß. Somit





kann die Verfügbarkeit der immunologisch distinkten FeFV-Vektoren einen wesentlich flexibleren Einsatz dieser rekombinanten Viren in der Therapie erlauben. Therapeutische Applikationen sind trotz bestehender Immunität gegen ein FeFV-Virus-Isolat immer noch mit dem anderen FeFV-Serotyp möglich, was ein Vorteil ist, den keines der anderen retroviralen Vektorsysteme aufweist.

Der erfindungsgemäße FV-Vektor ist jedoch nicht nur für die Gentherapie/Vakzinierung von Tieren, beispielsweise Katzen geeignet, sondern auch für entsprechende Therapien beim Menschen. Aufgrund der Tatsache, daß (a) mit dem vorstehend beschriebenen erfindungsgemäßen FeFV-Vektor Katzen gegen FIV geimpft werden können und (b) die FIV-Infektion der Katze molekularbiologisch und pathogenetisch sehr stark der HIV-Infektion des Menschen ähnelt (siehe beispielsweise dazu Elder et al., Aids Research and Human Retroviruses 14 (1998), 797-801), kann davon ausgegangen werden, daß der erfindungsgemäße FV-Vektor nicht nur zur Gentherapie beim Menschen hinsichtlich beispielsweise der Einführung von Tumorsuppressorgenen geeignet ist, sondern auch zur Durchführung einer Schutzimpfung gegenüber HIV von Nutzen ist. Für die Vakzinierung gegen die HIV-Infektion bieten sich primär T-Zell Epitope und Sequenzen der HIV Struktur- und Nichtstrukturproteine an, die einerseits immunrelevante Epitope tragen und gleichzeitig zumindest moderat konserviert sind. Von den Erfindern wurde bestätigt, daß feline und humane Zellen den erfindungsgemäßen Vektor replizieren, und rekombinante Vektorpartikel werden in beiden Zelltypen (z.B. feline CRFK-Zellen, humane 293T-Zellen) gebildet.

Schließlich betrifft somit die vorliegende Erfindung auch die Verwendung des erfindungsgemäßen FV-Vektors zur Vakzinierung, vorzugsweise gegenüber FIV bei Katzen oder HIV beim Menschen.

Die Figuren zeigen:

Fig 1: Schematische Darstellung der Organisation des FeFV-



## Provirus

Fig.2: Nucleinsäure-Sequenz und abgeleitete  
Aminosäuresequenz von FeFV (Winkler et al., J. of  
Virology, Vol. 71, No. 9, Sept. 1997, S. 6727-6741)

Fig.3: Karte des Clons pFeFV-7 (Länge: 14.463 bp)  
Die pAT153 und die FeFV entsprechenden Anteile sind  
gekennzeichnet. Außerdem sind die Positionen der  
wichtigsten Restriktionsschnittstellen angegeben.

Die nachstehenden Beispiele veranschaulichen die Erfindung.

**Beispiel 1****Herstellung eines FeFV-Vektors (pFeFV-7)**

Die Gewinnung von FeFV-Isolaten, die DNA-Extraktion, die  
Konstruktion von rekombinanten FeFV-DNA-Clonen und die Analyse  
dieser Clone erfolgte im Prinzip wie in Winkler et al.,  
J.Virol. 71 (1997), 6727-6741, beschrieben. FeFV-DNA-Sequenzen  
von den Nucleotidpositionen 5118 bis 7431 wurden durch "long-  
template PCR" unter Verwendung spezifischer Primer und der DNA  
von mit FeFV infizierten "Crandell"-Katzennierenzellen (CRFK-  
Zellen) durchgeführt. Die Primer sind:

5118: 5'-CCTCATGCTTACGGGAATAATCTGGCTG-3' (forward)

7431: 5'-GAATAGCATACCAGAGCCTACAGGGCTC-3' (reverse)

7163: 5'-CCAATTGGACAAGAGTAGAATCCTATGG-3' (forward)

9057: 5'-TTCTCCAAGGAGCTGCAGCCACTCTGG-3' (reverse)

5775: 5'-TTTGCTCAGTGGGCAAAGGAAAGGAATATACAATTGG-3'  
(forward)

10522: 5'-GTTGACACTGATTTATATGGCACAATAATTCCTCTC-3'  
(reverse)

Die erhaltene amplifizierte DNA wurde in pCRII-Vektoren (Fa.  
Invitrogen, Niederlande) mittels üblicher Verfahren cloniert.  
Korrekte recombinante DNA-Clone wurden mit NdeI (in FeFV) und  
Ecl136II (im pCRII-Vektor) geschnitten und das erhaltene



Fragment von etwa 2,3 kbp wurde in den FeFV-DNA-Clone 7 (der mit ClaI gespalten, danach mittels Klenow-Polymerase mit glatten Enden versehen und schließlich mit NdeI geschnitten worden war) inseriert. Clone 7 enthält FeFV-DNA-Sequenzen von den Nucleotidpositionen 17 bis 5811 (Winkler et al., 1997). Durch diese Clonierung wurden FeFV-Clone erhalten, die sich von der Nucleotidposition 17 bis 7431 erstreckten (Clone 24 und 28).

Gleichzeitig wurde die FeFV-Insertion aus den rekombinanten Clonen 4,6 und 8, die FeFV-DNA-Sequenzen von den Nucleotidpositionen 8636 bis zum 3'-Ende des 3'LTR enthielten (Winkler et al., 1977), in den Vektor pBluescript KS (Fa. Stratagene, Heidelberg) subcloniert, wobei die gemeinsamen flankierenden Restriktionsenzymchnittstellen des Polylinkers verwendet wurden. In den erhaltenen Clonen 5,7 und 15 schließen sich an das 3'Ende des Genoms ClaI- und ApaI-Schnittstellen von den PCR-Primern und der Polylinkerstelle des Vektors an. FeFV-DNA-Sequenzen von den Nucleotidpositionen 7163 bis 9057 wurden durch "long-template PCR" unter Verwendung der oben genannten Primer amplifiziert und in das Plasmid pCRII wie vorstehend beschrieben cloniert, wobei der Clone V erhalten wurde.

Zur Herstellung eines Clons, der die vollständige provirale DNA enthält, wurden die folgenden clonierten, vorstehend beschriebenen DNA-Fragmente in einer Dreifachligation miteinander verknüpft: Das ApaI(Vektorschnittstelle)/Pml I-Fragment der Clone 24/28 + das PmlI/PstI-Fragment der Clone V + das PstI/ApaI-Fragment der Clone 5, 7 und 15.

Die erhaltenen DNA-Clone waren genetisch stabil und enthielten FeFV-DNA von den Nucleotidpositionen 17 bis 11700 als Insertion im pBluescript-Vektor. Die FeFV-Insertion zwischen den EagI- und ClaI-Stellen, die die FeFV-DNA flankieren, wurden dann in den entsprechend geschnittenen Vektor pAT153 (= "high copy-number" Deletionsmutante von pBR322; Twiggs und Sherrat, 1980, Nature 283, S. 216) subcloniert.



Verschiedene, unabhängig erhaltene Clone wurden nach Transfektion in FeFV-permissive eukaryontische CRFK-Zellen analysiert; es zeigte sich jedoch eine geringe Infektiosität. Clone 13 zeigte eine moderate virale Infektiosität und wurde daher zur vollständigen Restaurierung der Infektiosität verwendet. FeFV-DNA-Sequenzen von den Nucleotidpositionen 5775 bis 10522 wurde mittels "long-template PCR" unter Verwendung der oben genannten Primer amplifiziert und direkt mit BstZ17I (Nucleotidposition 5980) und BsaI (Nucleotidposition 10137) geschnitten. Das erhaltene DNA-Fragment mit einer Länge von etwa 4,2 kbp wurde zum Austausch der entsprechenden Sequenzen des Clons 13 (mit vollständiger Länge) verwendet. Nach Transfektion in CRFK-Zellen zeigte sich, daß der erhaltene FeFV-Clone pFeFV-7 voll infektiös und genetisch stabil war. Das erhaltene rekombinante FeFV-Virus war von nichtclonierten, aus Zellkulturen erhaltenen Viren nicht unterscheidbar. pFeFV-7 wurde am 23. November 1998 unter der Nummer DSM 12514 bei der DSMZ, Mascheroder Weg 2, Braunschweig hinterlegt.

## Beispiel 2

### **Herstellung einer Neutralisations-resistenten Variante von pFeFV-7, die heterologe Sequenzen des FeFV-Serotyps 951 in Katzenzellen exprimiert**

Um die Praktikabilität von FeFV-basierten Vektoren zu demonstrieren, wurden die für die Virus-Neutralisation relevanten Epitope des oben beschriebenen FeFV-7 Isolats durch die entsprechenden Sequenzen eines Isolats 951-ähnlichen FeFV-Virus (Flower et al., 1985, Arch. Virol. 83, 53) ausgetauscht. Dabei wurde wie folgt vorgegangen:

Die Env DNA-Sequenzen des FeFV-Isolats 951 wurden aus DNA von FeFV-951-infizierten CRFK-Zellen mit dem forward-Primer 5'-GACATACCTGAAGATATTC-3' (Position 6418) und dem reverse-Primer 5'-CGACTTGTACCAGGCCTATTCCTGG-3' (Position 9901) mittels PCR amplifiziert. Das Amplifikat wurde mit der Restriktionsendonuklease KpnI verdaut und das ca. 3,5 kB große DNA-Fragment isoliert. Parallel wurde der oben beschriebene FeFV-Vektor pFeFV-7 mit Kpn verdaut und das dem Vektor-Backbone entsprechende DNA-Fragment isoliert. Beide DNAs wurden





miteinander ligiert und die Rekombinanten identifiziert, bei denen die FeFV-951 env DNA-Sequenzen in der korrekten Orientierung in pFeFV-7 insertiert worden waren. Der resultierende DNA-Klon pFEFV-7/951 ist genetisch stabil. Nach Transfektion in CRFK-Zellen ist das Proteinexpressionsmuster dieses Klons nicht von dem Wildtyp-Klon pFeFV-7 unterscheidbar. Plasmid pFeFV-7/951 induziert die Synthese infektiöser FeFV-Partikel.

Das genetisch modifizierte Hybrid pFeFV-7/951 ist replikationskompetent und wird aufgrund des Austauschs von Neutralisations-relevanten Epitopen nicht mehr durch Seren gegen das FeFV-Isolat neutralisiert. Dies wurde in Neutralisationsstudien gezeigt: Seren, die gegen das FEFV-Isolat gerichtet sind, neutralisieren Nachkommen des Plasmids pFeFV-7, nicht aber Viren des Klons pFEFV-7/951. Seren gegen das FeFV-Isolat 951 neutralisieren entsprechend Viren des Klons pFeFV-7/951, nicht jedoch vom Plasmid pFeFV-7.

Es wurde in diesem Beispiel somit ein chimärer Hybridvektor konstruiert, der heterologe Protein-Sequenzen effizient und stabil exprimiert. Zudem wurde erstmals ein Vektorpaar (Plasmids pFeFV-7 und pFeFV-7/951) konstruiert, das keine kreuzneutralisierenden Antikörper induziert.

In einer therapeutischen Anwendung beider Vektoren kann also zuerst ein Serotyp (z.B. FeFV-7) für den Transfer des therapeutischen Gens eingesetzt werden. Etabliert der Patient eine neutralisierende Seroreaktivität gegen diesen Vektor-Serotyp, kann der andere Serotyp (in diesem Fall pFeFV-7/951) eingesetzt werden, gegen den keine neutralisierenden Antikörper vorliegen. Therapeutische Applikationen wären trotz bestehender Immunität gegen ein Virus-Isolat immer noch mit dem anderen Serotyp möglich. Dies ist ein Vorteil, den kein anderes retrovirales Vektorsystem aufweist.



**Patentansprüche**

- 5 1. Retroviraler Vektor zur Einführung einer gewünschten, exprimierbaren DNA in eine Säugierzelle, wobei der retrovirale Vektor folgende Sequenzen umfaßt: Eine erste DNA-Sequenz, die dem reversen Transkript mindestens eines Teils eines felineen Foamyvirus (FeFV) entspricht, und  
10 eine zweite DNA-Sequenz, die die Propagation in Bakterien erlaubt.
2. Retroviraler Vektor nach Anspruch 1, wobei in dem Vektor weiter eine gewünschte exprimierbare Fremd-DNA enthalten ist  
15
3. Retroviraler Vektor nach Anspruch 1 oder 2, wobei die erste DNA-Sequenz das reverse Transkript des gesamten Foamyvirus umfaßt.
- 20 4. Retroviraler Vektor nach einem der Ansprüche 1 bis 3, wobei die erste DNA-Sequenz sowohl die 5'LTR als auch die 3'LTR eines Foamyvirus umfaßt.
- 25 5. Retroviraler Vektor nach einem der Ansprüche 1 bis 4, wobei die zweite DNA-Sequenz in den 5'LTR-Bereich und/oder 3'LTR-Bereich des Foamyvirus inseriert ist.
- 30 6. Retroviraler Vektor nach einem der Ansprüche 1 bis 5, der zusätzlich ein Gen enthält, das einen nachweisbaren phänotypischen Marker codiert.
- 35 7. Retroviraler Vektor nach einem der Ansprüche 1 bis 6, wobei die zweite DNA-Sequenz für neutralisierende Epitope des felineen Immundefizienzvirus (FIV) oder des menschlichen Immundefizienzvirus (HIV) codiert.
8. Retroviraler Vektor nach einem der Ansprüche 1 bis 7, wobei die erste DNA-Sequenz jene des bei der DSMZ am 23.



November 1998 hinterlegten Plasmids pFeFV-7 (DSM 12514) ist.

- 5      9.      Plasmid, den retroviralen Vektor nach einem der Ansprüche 1 bis 8 enthaltend.
10.    Zelle, das Plasmid nach Anspruch 9 enthaltend.
- 10    11.    Zelle nach Anspruch 10, die eine Tierzelle ist.
12.    Zelle nach Anspruch 11, die eine Säugerzelle ist.
- 15    13.    Transgenes Tier, den retroviralen Vektor nach einem der Ansprüche 1 bis 8 oder das Plasmid nach Anspruch 9 enthaltend.
- 20    14.    Verwendung des Vektors nach einem der Ansprüche 1 bis 8 oder des Plasmids nach Anspruch 9 zur Herstellung eines Arzneimittels zur Vakzinierung.
15.    Verwendung des Vektors nach Anspruch 7 zur Herstellung eines Arzneimittels zur Vakzinierung von Katzen gegen FIV oder Menschen gegen HIV.
- 25    16.    Verwendung des Vektors nach einem der Ansprüche 1 bis 8 oder des Plasmids nach Anspruch 9 zur Herstellung eines Arzneimittels zur gentherapeutischen Behandlung von Patienten.



### Zusammenfassung

#### FV-Vektoren zur Expression von Fremdgenen in Säugern und deren 5 Verwendung

Beschrieben werden retrovirale, auf feline Foamyviren (FeFV)  
basierende Vektoren zur Einführung einer gewünschten,  
exprimierbaren DNA in eine Säugerzelle. Ein Beispiel des  
10 erfindungsgemäßen Vektors ist ein Vektor, der die Expression  
von neutralisierenden Epitopen des feline Immundefizienzvirus  
(FIV) in der Katze oder des menschlichen Immundefizienzvirus  
(HIV) im Menschen und damit eine wirksame Vakzinierung  
erlaubt.

15





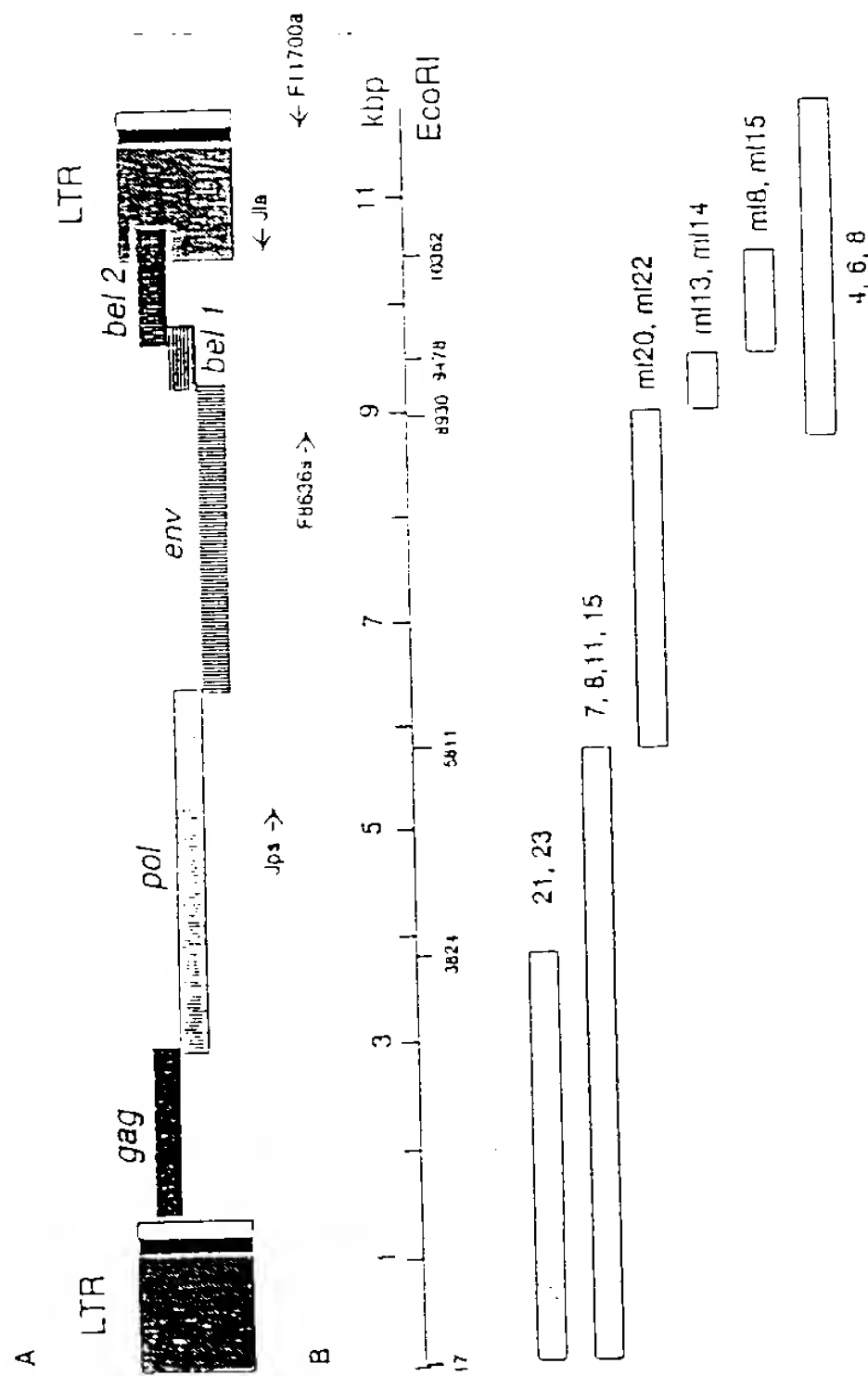


Fig. 1



PBS  
 1356 GGGGGCGACGCGGGGCTCGATTGAGTGAATTTAAATTAGCTGAGGAGAATAATCCCTAGGGACCTTACCTTACTGAGGAGGATGGCTGAGGATT  
 1456 AAATCCTCTCCCAATTACAGCACTGTTATTAATTAATGCTTACACCTTATTCAGGACCTGAGATATTATTGCTGCTGAGATTACAGGAGGACCTTGG  
 1556 GGTCCAGGTGATAGATGGGGCTAGCTGACATAACGATTACAGGATACACAGGACACCTTACAGGTTCTGCTGATATGATTGGACCTGGGATATAA  
 1656 ATTTCAGACAGGATATCTTGATAGCGGGGCTATTAATTAATTAAGACTGCTTTTGGACTTAGAGCTTCCAGAGGACCTTGAAGGATGCTGCTT  
 1756 TGGAGATGGCGATTACAGCTTCCAGATGGTTTATTCAGGAGATTTACCTATCTGATGAAGAATAACAGGCGAGAGTAGGAATATTGCTGCTGCT  
 1856 AGAAATGAGATAGATTATTACAGAGGCTTTACAGAGATTACAGCTGAGGCTGCTGCTTAGACCTTATACAGGAGGCTTTTACAGCAGACCTTA  
 1956 TAGGGGCGGTAATACGATTATTCATCTTGGTGGTTTATTCGGAATCTCCAGCAATCCAGGAGCTCCGCTTATGGCTTGGAGATCTACAGGCGC  
 2056 TATTAAGGAGTATTCCGCTGCTGAGCTTCTCTTATAGGCTAGTATATGCTTAGTACCTTCTCTCCGCTTACCTTCTAGGATTTAG  
 2156 GGGGGCGGCTGAGATGCTGCTGCTTACGCTTATTCAGGAGGAGCTTACGCTGCTGCTGAGCTTCTGCTGAGCTTCTGCTGAGCTTCTGCTGAG  
 2256 AGGAGGCTATACAGCTGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCTTACGATGCT  
 2356 CTTCTGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCT  
 2456 GCTTCTGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCT  
 2556 ATCAGGCTGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCT  
 2656 GCTTCTGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCT  
 2756 CTTCTGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCT  
 2856 GAGAGGCTGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCT  
 2956 TGAGGCTGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCT  
 3056 TAGGCTGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCT  
 3156 GGGCTGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCT  
 3256 AGGCTGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCT  
 3356 TGAGGCTGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCT  
 3456 GATGCTGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCT  
 3556 GTGCTGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCT  
 3656 TGAGGCTGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCTTACGATGCTTCTGCT

Fig. 2



2. PPT

Fig. 2 (Fortsetzung)



[illegible]

Fig. 2 (Fortsetzung)





[illegible]

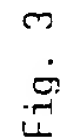
Fig. 2 (Fortsetzung)



10956 ATCCTTTAAACCTGTAATCTTTAGTCATCTAGATACTTAGAGTATGAAAAAGAACTGCAATAGTAACCTATCATGTTAGTAAATAAGTACAGCTT  
 11056 AGTCATCTGATGATGTTCACTAGAAAAGAACTTAGAAGAGAAGAACTACTTTTGGCATGCAACACAGCTGGGAGCTTGGTGTAGGAGCTAAGTCACTGCTT  
 11156 ACATCTAGAGCCTACTCTTCTTGGAGCTGTTGCAATGCTATTTTGGAACTCTTACATCACCTTTAGAGACTGAAAGCATGACTGGTGCACAGGAAGCT  
 11256 CCTTTAGGGTAGAGGAAATGTTCTTAACTCTCTATCTTAAAGGGTTGCTTCATTTAAGGTTGCAAACTGTGTACTGGAAGTAGATTTTGCATAACTTTAAA  
 11356 CTTTATGTTGCACTGTTCTGCTATGAGAGCTATATAAAGGGTTATGGTAGATTGTACGGGAGCTCTTCTCACAGACTTGGCTGCTTCCAGGGTGAAGTT  
 11456 GAGACTCTCCAGCTTGGGTAAAGATTTTGATATGTAATTTGCTTGAATATTATTGCTTGGCTCAAAATTAAATTAATTGGCTTTCTTTCTCAATTCA  
 11556 AGCTTCAATTAATTTATTAATGCTGTAAGGCTGAACTCACCTGAGTGGTGTCTTCTATTTCTTGGGGAAAAGTGTCTTCTAATTTGAAAGTGTTAGAGC  
 11656 TACTAAGTGAAGAACTAATCTATGCTGGGTAGGCCACGACA

Fig. 2 (Fortsetzung)







Translation

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference K 2769 - sch/msl	<b>FOR FURTHER ACTION</b> See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/DE99/04052	International filing date (day/month/year) 17 December 1999 (17.12.99)	Priority date (day/month/year) 17 December 1998 (17.12.98)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C12N 15/867		
Applicant DEUTSCHES KREBSFORSCHUNGSZENTRUM STIFTUNG DES ÖFFENTLICHEN RECHTS		

<p>1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.</p> <p>2. This REPORT consists of a total of <u>5</u> sheets, including this cover sheet.</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).</p> <p>These annexes consist of a total of <u>2</u> sheets.</p>	
<p>3. This report contains indications relating to the following items:</p> <p>I <input checked="" type="checkbox"/> Basis of the report</p> <p>II <input type="checkbox"/> Priority</p> <p>III <input type="checkbox"/> Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability</p> <p>IV <input type="checkbox"/> Lack of unity of invention</p> <p>V <input checked="" type="checkbox"/> Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement</p> <p>VI <input type="checkbox"/> Certain documents cited</p> <p>VII <input type="checkbox"/> Certain defects in the international application</p> <p>VIII <input checked="" type="checkbox"/> Certain observations on the international application</p>	

Date of submission of the demand 17 July 2000 (17.07.00)	Date of completion of this report 20 March 2001 (20.03.2001)
Name and mailing address of the IPEA/EP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.





# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/DE99/04052

## I. Basis of the report

### 1. With regard to the **elements** of the international application:\*

- ☐ the international application as originally filed
- ☒ the description:  
 pages 1-14 , as originally filed  
 pages \_\_\_\_\_ , filed with the demand  
 pages \_\_\_\_\_ , filed with the letter of \_\_\_\_\_
- ☒ the claims:  
 pages \_\_\_\_\_ , as originally filed  
 pages \_\_\_\_\_ , as amended (together with any statement under Article 19  
 pages \_\_\_\_\_ , filed with the demand  
 pages 1-16 , filed with the letter of 02 February 2001 (02.02.2001)
- ☒ the drawings:  
 pages 1/7-7/7 , as originally filed  
 pages \_\_\_\_\_ , filed with the demand  
 pages \_\_\_\_\_ , filed with the letter of \_\_\_\_\_
- ☐ the sequence listing part of the description:  
 pages \_\_\_\_\_ , as originally filed  
 pages \_\_\_\_\_ , filed with the demand  
 pages \_\_\_\_\_ , filed with the letter of \_\_\_\_\_

### 2. With regard to the **language**, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language \_\_\_\_\_ which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

### 3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
- ☐ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

### 4. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages \_\_\_\_\_
- ☐ the claims, Nos. \_\_\_\_\_
- ☐ the drawings, sheets/fig \_\_\_\_\_

### 5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).\*\*

\* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

\*\* Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.



# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No  
PCT/DE 99/04052

## V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

### 1. Statement

Novelty (N)	Claims	1-16	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims	1-16	YES
	Claims		NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-16	YES
	Claims		NO

### 2. Citations and explanations

#### I. Citations

This report makes reference to the following documents:

D1: J. Gen. Virology **78**, 2549-2564 (Helps et al. 1997)  
D2: J. Virology **71**, 6727-6741 (Winkler et al., 1997).

#### II. Novelty

The claimed subject matter of Claims 1-16 is novel and these claims can be allowed under PCT Article 33(2).

#### III. Inventive step

1. D1 is regarded as the closest prior art with regard to inventive step and describes the entire DNA sequence of the feline foamy virus F-17 and, on page 2549, the advantages of the use of vectors based on this virus for introducing heterologous DNA into mammal cells, such as a relatively large genome and a wide host spectrum. In view of D1, the present invention addresses the problem of providing vectors based on feline foamy virus (FeFV) for expressing foreign genes in mammal cells.



**INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT**

International application No

PCT/DE 99/04052

2. The vector disclosed and claimed in this application comprises a first DNA sequence which corresponds to the reverse transcript of part of the FeFV and a second DNA sequence which enables propagation in bacteria. D2 discloses such a DNA construct. That article states that a 4.7 kbp fragment of FeFV can be inserted into pUC18 and propagated in bacteria. D2 also states that repeated attempts to clone this 4.7 kbp fragment in different vectors were unsuccessful. Consequently, the invention should be considered inventive and the subject matter of Claims 1-16 complies with PCT Article 33(3).



# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No  
PCT/DE 99/04052

## VIII. Certain observations on the international application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

1. Claims 7 and 15 concern retroviral vectors that encode neutralising epitopes of the feline immunodeficiency virus (FIV) or the human immunodeficiency virus (HIV) and the use of these vectors for producing a medicament. However, the application does not disclose these vectors. Claims 7 and 15 are therefore not supported by the description and contravene PCT Article 6.

2. The PCT does not contain any criteria concerning plasmid deposition requirements. When the application enters the regional phase, the EPO will request the applicant to present a certificate of receipt or equivalent proof of the deposition of the plasmid pFeFV-7 in order to ensure that the requirements of EPC Articles 83 and 28 are met.

3. The International Preliminary Examining Authority points out that Claim 13 concerns a transgenic animal but does not expressly exclude human beings.





**Claims**

1. A retroviral vector for introducing a desired, expressible DNA into a mammalian cell, wherein the retroviral vector comprises the following sequences: A first DNA sequence corresponding to the reverse transcript of at least part of a feline foamy virus (FeFV), and a second DNA sequence permitting the propagation in bacteria.
2. The retroviral vector according to claim 1, wherein the vector further comprises a desired expressible foreign DNA.
3. The retroviral vector according to claim 1 or 2, wherein the first DNA sequence comprises the reverse transcript of the entire foamy virus.
4. The retroviral vector according to any one of claims 1 to 3, wherein the first DNA sequence comprises both 5'LTR and 3'LTR of a foamy virus.
5. The retroviral vector according to any one of claims 1 to 4, wherein the second DNA sequence is inserted in the 5'LTR region and/or 3'LTR region of the foamy virus.
6. The retroviral vector according to any one of claims 1 to 5, which additionally contains a gene coding for an identifiable phenotypic marker.
7. The retroviral vector according to any one of claims 1 to 6, wherein the second DNA sequence codes for neutralizing epitopes of the feline immunodeficiency virus (FIV) or the human immunodeficiency virus (HIV).
8. The retroviral vector according to any one of claims 1 to 7, wherein the first DNA sequence is that of the plasmid pFeFV-7 deposited with the DSMZ (German Type Collection of Microorganisms and Cell Cultures) on



November 23, 1998 (DSM 12514).

9. A plasmid containing the retroviral vector according to any one of claims 1 to 8.
10. A cell containing the plasmid according to claim 9.
11. The cell according to claim 10, which is an animal cell.
12. The cell according to claim 11, which is a mammalian cell.
13. A transgenic animal containing the retroviral vector according to any one of claims 1 to 8 or the plasmid according to claim 9.
14. Use of the vector according to any one of claims 1 to 8 or the plasmid according to claim 9 for the production of a medicament for vaccination.
15. Use of the vector according to claim 7 for the production of a medicament for the vaccination of cats against FIV or human beings against HIV.
16. Use of the vector according to any one of claims 1 to 8 or the plasmid according to claim 9 for the production of a medicament for the gene-therapeutic treatment of patients.



## INTERNATIONAL COOPERATION TREATY

PCT

## NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Assistant Commissioner for Patents  
 United States Patent and Trademark  
 Office  
 Box PCT  
 Washington, D.C. 20231  
 ETATS-UNIS D'AMERIQUE

in its capacity as elected Office

<b>Date of mailing</b> (day/month/year) 03 August 2000 (03.08.00)	
<b>International application No.</b> PCT/DE99/04052	<b>Applicant's or agent's file reference</b> K 2769 - sch/msl
<b>International filing date</b> (day/month/year) 17 December 1999 (17.12.99)	<b>Priority date</b> (day/month/year) 17 December 1998 (17.12.98)
<b>Applicant</b> FLÜGEL, Rolf-M. et al	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

☒ in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:  
 17 July 2000 (17.07.00)

☐ in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:  
 \_\_\_\_\_

2. The election ☒ was  
☐ was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No.: (41-22) 740.14.35	Authorized officer R. Forax Telephone No.: (41-22) 338.83.38
-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------



# VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT IM GEBIET DES PATENTWESENS

Absender: INTERNATIONALE RECHERCHENBEHÖRDE

## PCT

An

SCHÜSSLER Andrea  
Huber & Schüssler  
Truderinger Strasse 246  
D-81825 München  
GERMANY

11. MAI 2000  
09.07.00

MITTEILUNG ÜBER DIE ÜBERMITTLUNG DES  
INTERNATIONALEN RECHERCHENBERICHTS  
ODER DER ERKLÄRUNG

(Regel 44.1 PCT)

9.7. 100.601

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts K 2769 - sch/msl	Absendedatum (Tag/Monat/Jahr) 09/05/2000
Internationales Aktenzeichen PCT/DE 99/04052	WEITERES VORGEHEN siehe Punkte 1 und 4 unten
Anmelder DEUTSCHES KREBSFORSCHUNGSZENTRUM STIFTUNG . . ET AL	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 17/12/1999

- ☒ Dem Anmelder wird mitgeteilt, daß der internationale Recherchenbericht erstellt wurde und ihm hiermit übermittelt wird.  
**Einreichung von Änderungen und einer Erklärung nach Artikel 19:**  
Der Anmelder kann auf eigenen Wunsch die Ansprüche der internationalen Anmeldung ändern (siehe Regel 46):  
  
**Bis wann sind Änderungen einzureichen?**  
Die Frist zur Einreichung solcher Änderungen beträgt üblicherweise zwei Monate ab der Übermittlung des internationalen Recherchenberichts; weitere Einzelheiten sind den Anmerkungen auf dem Beiblatt zu entnehmen.  
  
**Wo sind Änderungen einzureichen?**  
Unmittelbar beim Internationalen Büro der WIPO, 34, CHEMIN des Colombettes, CH-1211 Genf 20,  
Telefaxnr.: (41-22) 740.14.35  
  
Nähere Hinweise sind den Anmerkungen auf dem Beiblatt zu entnehmen.
- ☐ Dem Anmelder wird mitgeteilt, daß kein internationaler Recherchenbericht erstellt wird und daß ihm hiermit die Erklärung nach Artikel 17(2)a) übermittelt wird.
- ☐ Hinsichtlich des Widerspruchs gegen die Entrichtung einer zusätzlichen Gebühr (zusätzlicher Gebühren) nach Regel 40.2 wird dem Anmelder mitgeteilt, daß  
☐ der Widerspruch und die Entscheidung hierüber zusammen mit seinem Antrag auf Übermittlung des Wortlauts sowohl des Widerspruchs als auch der Entscheidung hierüber an die Bestimmungsbüro dem Internationalen Büro übermittelt worden sind.  
☐ noch keine Entscheidung über den Widerspruch vorliegt; der Anmelder wird benachrichtigt, sobald eine Entscheidung getroffen wurde.
- Welteres Vorgehen:** Der Anmelder wird auf folgendes aufmerksam gemacht:  
Kurz nach Ablauf von **18 Monaten** seit dem Prioritätsdatum wird die internationale Anmeldung vom Internationalen Büro veröffentlicht. Will der Anmelder die Veröffentlichung verhindern oder auf einen späteren Zeitpunkt verschieben, so muß gemäß Regel 90<sup>bis</sup> bzw. 90<sup>ter</sup> vor Abschluß der technischen Vorbereitungen für die internationale Veröffentlichung eine Erklärung über die Zurücknahme der internationalen Anmeldung oder des Prioritätsanspruchs beim Internationalen Büro eingehen.  
Innerhalb von **19 Monaten** seit dem Prioritätsdatum ist ein Antrag auf internationale vorläufige Prüfung einzureichen, wenn der Anmelder den Eintritt in die nationale Phase bis zu 30 Monaten seit dem Prioritätsdatum (in manchen Ämtern sogar noch länger) verschieben möchte.  
Innerhalb von **20 Monaten** seit dem Prioritätsdatum muß der Anmelder die für den Eintritt in die nationale Phase vorgeschriebenen Handlungen vor allen Bestimmungsbüro vornehmen, die nicht innerhalb von 19 Monaten seit dem Prioritätsdatum in der Anmeldung oder einer nachträglichen Auswählerklärung ausgewählt wurden oder nicht ausgewählt werden konnten, da für sie Kapitel II des Vertrages nicht verbindlich ist.

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde



Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL-2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Sandra De Jong-van Dam





Diese Anmerkungen sollen grundlegende Hinweise zur Einreichung von Änderungen gemäß Artikel 19 geben. Diesen Anmerkungen liegen die Erfordernisse des Vertrags über die internationale Zusammenarbeit auf dem Gebiet des Patentwesens (PCT), der Ausführungsordnung und der Verwaltungsrichtlinien zu diesem Vertrag zugrunde. Bei Abweichungen zwischen diesen Anmerkungen und obengenannten Texten sind letztere maßgebend. Nähere Einzelheiten sind dem PCT-Leitfaden für Anmelder, einer Veröffentlichung der WIPO, zu entnehmen.

Die in diesen Anmerkungen verwendeten Begriffe "Artikel", "Regel" und "Abschnitt" beziehen sich jeweils auf die Bestimmungen des PCT-Vertrags, der PCT-Ausführungsordnung bzw. der PCT-Verwaltungsrichtlinien.

## HINWEISE ZU ÄNDERUNGEN GEMÄSS ARTIKEL 19

Nach Erhalt des internationalen Recherchenberichts hat der Anmelder die Möglichkeit, einmal die Ansprüche der internationalen Anmeldung zu ändern. Es ist jedoch zu betonen, daß, da alle Teile der internationalen Anmeldung (Ansprüche, Beschreibung und Zeichnungen) während des internationalen vorläufigen Prüfungsverfahrens geändert werden können, normalerweise keine Notwendigkeit besteht, Änderungen der Ansprüche nach Artikel 19 einzureichen, außer wenn der Anmelder z.B. zum Zwecke eines vorläufigen Schutzes die Veröffentlichung dieser Ansprüche wünscht oder ein anderer Grund für eine Änderung der Ansprüche vor ihrer internationalen Veröffentlichung vorliegt. Weiterhin ist zu beachten, daß ein vorläufiger Schutz nur in einigen Staaten erhältlich ist.

### Welche Teile der internationalen Anmeldung können geändert werden?

Im Rahmen von Artikel 19 können nur die Ansprüche geändert werden.

In der internationalen Phase können die Ansprüche auch nach Artikel 34 vor der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde geändert (oder nochmals geändert) werden. Die Beschreibung und die Zeichnungen können nur nach Artikel 34 vor der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde geändert werden.

Beim Eintritt in die nationale Phase können alle Teile der internationalen Anmeldung nach Artikel 28 oder gegebenenfalls Artikel 41 geändert werden.

### Bis wann sind Änderungen einzureichen?

Innerhalb von zwei Monaten ab der Übermittlung des internationalen Recherchenberichts oder innerhalb von sechzehn Monaten ab dem Prioritätsdatum, je nachdem, welche Frist später abläuft. Die Änderungen gelten jedoch als rechtzeitig eingereicht, wenn sie dem Internationalen Büro nach Ablauf der maßgebenden Frist, aber noch vor Abschluß der technischen Vorbereitungen für die internationale Veröffentlichung (Regel 46.1) zugehen.

### Wo sind die Änderungen nicht einzureichen?

Die Änderungen können nur beim Internationalen Büro, nicht aber beim Anmeldeamt oder der Internationalen Recherchenbehörde eingereicht werden (Regel 46.2).

Falls ein Antrag auf internationale vorläufige Prüfung eingereicht wurde/wird, siehe unten.

### In welcher Form können Änderungen erfolgen?

Eine Änderung kann erfolgen durch Streichung eines oder mehrerer ganzer Ansprüche, durch Hinzufügung eines oder mehrerer neuer Ansprüche oder durch Änderung des Wortlauts eines oder mehrerer Ansprüche in der eingereichten Fassung.

Für jedes Anspruchsblatt, das sich aufgrund einer oder mehrerer Änderungen von dem ursprünglich eingereichten Blatt unterscheidet, ist ein Ersatzblatt einzureichen.

Alle Ansprüche, die auf einem Ersatzblatt erscheinen, sind mit arabischen Ziffern zu numerieren. Wird ein Anspruch gestrichen, so brauchen, die anderen Ansprüche nicht neu numeriert zu werden. Im Fall einer Neunummerierung sind die Ansprüche fortlaufend zu numerieren (Verwaltungsrichtlinien, Abschnitt 205 b)).

Die Änderungen sind in der Sprache abzufassen, in der die internationale Anmeldung veröffentlicht wird.

### Welche Unterlagen sind den Änderungen beizufügen?

#### Begleitschreiben (Abschnitt 205 b)):

Die Änderungen sind mit einem Begleitschreiben einzureichen.

Das Begleitschreiben wird nicht zusammen mit der internationalen Anmeldung und den geänderten Ansprüchen veröffentlicht. Es ist nicht zu verwechseln mit der "Erklärung nach Artikel 19(1)" (siehe unten, "Erklärung nach Artikel 19(1)").

Das Begleitschreiben ist nach Wahl des Anmelders in englischer oder französischer Sprache abzufassen. Bei englischsprachigen internationalen Anmeldungen ist das Begleitschreiben aber ebenfalls in englischer, bei französischsprachigen internationalen Anmeldungen in französischer Sprache abzufassen.



## ANMERKUNGEN ZU FORMBLATT PCT/ISA/220 (Fortsetzung)

Im Begleitschreiben sind die Unterschiede zwischen den Ansprüchen in der eingereichten Fassung und den geänderten Ansprüchen anzugeben. So ist insbesondere zu jedem Anspruch in der internationalen Anmeldung anzugeben (gleichlautende Angaben zu verschiedenen Ansprüchen können zusammengefaßt werden), ob

- i) der Anspruch unverändert ist;
- ii) der Anspruch gestrichen worden ist;
- iii) der Anspruch neu ist;
- iv) der Anspruch einen oder mehrere Ansprüche in der eingereichten Fassung ersetzt;
- v) der Anspruch auf die Teilung eines Anspruchs in der eingereichten Fassung zurückzuführen ist.

Im folgenden sind Beispiele angegeben, wie Änderungen im Begleitschreiben zu erläutern sind:

1. [Wenn anstelle von ursprünglich 48 Ansprüchen nach der Änderung einiger Ansprüche 51 Ansprüche existieren]:  
"Die Ansprüche 1 bis 29, 31, 32, 34, 35, 37 bis 48 werden durch geänderte Ansprüche gleicher Numerierung ersetzt; Ansprüche 30, 33 und 36 unverändert; neue Ansprüche 49 bis 51 hinzugefügt."
2. [Wenn anstelle von ursprünglich 15 Ansprüchen nach der Änderung aller Ansprüche 11 Ansprüche existieren]:  
"Geänderte Ansprüche 1 bis 11 treten an die Stelle der Ansprüche 1 bis 15."
3. [Wenn ursprünglich 14 Ansprüche existierten und die Änderungen darin bestehen, daß einige Ansprüche gestrichen werden und neue Ansprüche hinzugefügt werden]:  
Ansprüche 1 bis 6 und 14 unverändert; Ansprüche 7 bis 13 gestrichen; neue Ansprüche 15, 16 und 17 hinzugefügt. "Oder" Ansprüche 7 bis 13 gestrichen; neue Ansprüche 15, 16 und 17 hinzugefügt; alle übrigen Ansprüche unverändert."
4. [Wenn verschiedene Arten von Änderungen durchgeführt werden]:  
"Ansprüche 1-10 unverändert; Ansprüche 11 bis 13, 18 und 19 gestrichen; Ansprüche 14, 15 und 16 durch geänderten Anspruch 14 ersetzt; Anspruch 17 in geänderte Ansprüche 15, 16 und 17 unterteilt; neue Ansprüche 20 und 21 hinzugefügt."

### "Erklärung nach Artikel 19(1)" (Regel 46.4)

Den Änderungen kann eine Erklärung beigefügt werden, mit der die Änderungen erläutert und ihre Auswirkungen auf die Beschreibung und die Zeichnungen dargelegt werden (die nicht nach Artikel 19 (1) geändert werden können).

Die Erklärung wird zusammen mit der internationalen Anmeldung und den geänderten Ansprüchen veröffentlicht.

Sie ist in der Sprache abzufassen, in der die internationale Anmeldung veröffentlicht wird.

Sie muß kurz gehalten sein und darf, wenn in englischer Sprache abgefaßt oder ins Englische übersetzt, nicht mehr als 500 Wörter umfassen.

Die Erklärung ist nicht zu verwechseln mit dem Begleitschreiben, das auf die Unterschiede zwischen den Ansprüchen in der eingereichten Fassung und den geänderten Ansprüchen hinweist, und ersetzt letzteres nicht. Sie ist auf einem gesonderten Blatt einzureichen und in der Überschrift als solche zu kennzeichnen, vorzugsweise mit den Worten "Erklärung nach Artikel 19 (1)".

Die Erklärung darf keine herabsetzenden Äußerungen über den internationalen Recherchenbericht oder die Bedeutung von in dem Bericht angeführten Veröffentlichungen enthalten. Sie darf auf im internationalen Recherchenbericht angeführte Veröffentlichungen, die sich auf einen bestimmten Anspruch beziehen, nur im Zusammenhang mit einer Änderung dieses Anspruchs Bezug nehmen.

### Auswirkungen eines bereits gestellten Antrags auf internationale vorläufige Prüfung

Ist zum Zeitpunkt der Einreichung von Änderungen nach Artikel 19 bereits ein Antrag auf internationale vorläufige Prüfung gestellt worden, so sollte der Anmelder in seinem Interesse gleichzeitig mit der Einreichung der Änderungen beim Internationalen Büro auch eine Kopie der Änderungen bei der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde einreichen (siehe Regel 52.2 a), erster Satz).

### Auswirkungen von Änderungen hinsichtlich der Übersetzung der internationalen Anmeldung beim Eintritt in die nationale Phase

Der Anmelder wird darauf hingewiesen, daß bei Eintritt in die nationale Phase möglicherweise anstatt oder zusätzlich zu der Übersetzung der Ansprüche in der eingereichten Fassung eine Übersetzung der nach Artikel 19 geänderten Ansprüche an die bestimmten/ausgewählten Ämter zu übermitteln ist.

Nähere Einzelheiten über die Erfordernisse jedes bestimmten/ausgewählten Amtes sind Band II des PCT-Leitfadens für Anmelder zu entnehmen.



VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT  
IM GEBIET DES PATENTWESSENS

# PCT

## INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts <b>K 2769 - sch/ms1</b>	<b>WEITERES VORGEHEN</b> siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5	
Internationales Aktenzeichen <b>PCT/DE 99/ 04052</b>	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) <b>17/12/1999</b>	(Frühestes) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) <b>17/12/1998</b>
Anmelder  <b>DEUTSCHES KREBSFORSCHUNGSZENTRUM STIFTUNG . . ET AL</b>		

Dieser internationale Recherchenbericht wurde von der Internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem Internationalen Büro übermittelt.

Dieser internationale Recherchenbericht umfaßt insgesamt 3 Blätter.

☒ Darüber hinaus liegt ihm jeweils eine Kopie der in diesem Bericht genannten Unterlagen zum Stand der Technik bei.

### 1. Grundlage des Berichts

a. Hinsichtlich der **Sprache** ist die internationale Recherche auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der Sprache durchgeführt worden, in der sie eingereicht wurde, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

☐ Die internationale Recherche ist auf der Grundlage einer bei der Behörde eingereichten Übersetzung der internationalen Anmeldung (Regel 23.1 b)) durchgeführt worden.

b. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale Recherche auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das

☐ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.

☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.

☒ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.

☒ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.

☒ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.

☒ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfaßten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

2. ☐ Bestimmte Ansprüche haben sich als nicht recherchierbar erwiesen (siehe Feld I).

3. ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung (siehe Feld II).

### 4. Hinsichtlich der Bezeichnung der Erfindung

☐ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☒ wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt:

**FOAMY-VIRUS-VEKTOREN ZUR EXPRESSION VON FREMDGENEN IN SÄGERN UND DEREN VERWENDUNG**

### 5. Hinsichtlich der Zusammenfassung

☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☐ wurde der Wortlaut nach Regel 38.2b) in der in Feld III angegebenen Fassung von der Behörde festgesetzt. Der Anmelder kann der Behörde innerhalb eines Monats nach dem Datum der Absendung dieses internationalen Recherchenberichts eine Stellungnahme vorlegen.

6. Folgende Abbildung der Zeichnungen ist mit der Zusammenfassung zu veröffentlichen: Abb. Nr.       

☐ wie vom Anmelder vorgeschlagen

☐ keine der Abb.

☐ weil der Anmelder selbst keine Abbildung vorgeschlagen hat.

☐ weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet.



# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

DE 99/04052

## A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 C12N15/867 C12N5/10 A01K67/027 A61K48/00

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

## B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 C12N A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

## C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	HELPS CR UND HARBOUR DA: "Comparison of the complete sequence of feline spumavirus with those of the primate spumaviruses reveals a shorter gag gene" JOURNAL OF GENERAL VIROLOGY, Bd. 78, Nr. 10, Oktober 1997 (1997-10), Seiten 2549-2564, XP002135716 READING GB Seite 2549, rechte Spalte, letzter Absatz --- -/-	1-6,9-12

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

\* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

\*A\* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

\*E\* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

\*L\* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

\*O\* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

\*P\* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

\*T\* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

\*X\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

\*Y\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

\*&\* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

14. April 2000

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

09/05/2000

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Cupido, M





## C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN


Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	<p>WINKLER I ET AL: "Characterization of the genome of feline foamy virus and its proteins shows distinct features different from those of primate spumaviruses"</p> <p>JOURNAL OF VIROLOGY, Bd. 71, Nr. 9, September 1997 (1997-09), Seiten 6727-6741, XP002135717</p> <p>AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY US in der Anmeldung erwähnt Seite 6728, rechte Spalte, Absatz 2 -Seite 6729</p> <p>---</p>	1-6,9-12
A	<p>SCHMIDT M ET AL: "REPLICATING FOAMY VIRUS-BASED VECTORS DIRECTING HIGH LEVEL EXPRESSION OF FOREIGN GENES"</p> <p>VIROLOGY,US,RAVEN PRESS, NEW YORK, NY, Bd. 210, 20. Juni 1995 (1995-06-20), Seiten 167-178, XP000674745 ISSN: 0042-6822 das ganze Dokument</p> <p>---</p>	1-6,9-16
A	<p>DE 43 18 387 A (BAYER AG) 8. Dezember 1994 (1994-12-08) das ganze Dokument</p> <p>---</p>	1-6,9-16
A	<p>WO 98 35024 A (SWITZER WILLIAM M ;HENEINE WALID (US); US HEALTH (US); BROWN JENNI) 13. August 1998 (1998-08-13) Seite 6, Zeile 21 - Zeile 35</p> <p>-----</p>	1-6,9-16



# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichung  selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

 DE 99/04052

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
DE 4318387	A	08-12-1994	EP	0632129 A	04-01-1995
			JP	6343477 A	20-12-1994
			US	5646032 A	08-07-1997
-----					
WO 9835024	A	13-08-1998	US	5882912 A	16-03-1999
			AU	6156298 A	26-08-1998
-----					



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Patent Application No

US 98/02598

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
DE 4318387 A	08-12-1994	EP 0632129 A	04-01-1995
		JP 6343477 A	20-12-1994
		US 5646032 A	08-07-1997
-----			



Der Antrag ist bei der zuständigen mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde oder, wenn mehrere Behörden zuständig sind, bei der vom Anmelder gewählten Behörde einzureichen. Der Anmelder kann den Namen oder den Zweibuchstaben-Code der Behörde auf der nachstehenden Zeile angeben.

IPEA/ \_\_\_\_\_

# PCT

## KAPITEL II

### ANTRAG AUF INTERNATIONALE VORLÄUFIGE PRÜFUNG

nach Artikel 31 des Vertrags über die internationale Zusammenarbeit auf dem Gebiet des Patentwesens:  
Der (die) Unterzeichnete(n) beantragt (beantragen), daß für die nachstehend bezeichnete internationale Anmeldung die internationale vorläufige Prüfung nach dem Vertrag über die internationale Zusammenarbeit auf dem Gebiet des Patentwesens durchgeführt wird.

Von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde auszufüllen

Bezeichnung der IPEA	Eingangsdatum des ANTRAGS
----------------------	---------------------------

Feld Nr. I KENNZEICHNUNG DER INTERNATIONALEN ANMELDUNG		Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts K 2769 - sch/msl
Internationales Aktenzeichen PCT/DE99/04052	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 17. Dez. 1999 (17.12.99)	(Frühester) Prioritätstag (Tag/Monat/Jahr) 17. Dez. 1998 (17.12.98)
Bezeichnung der Erfindung Foamy-Virus-Vektoren zur Expression von Fremdgenen in Säugern und deren Verwendung		
Feld Nr. II ANMELDER		
Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.)  Deutsches Krebsforschungszentrum Stiftung des öffentlichen Rechts Im Neuenheimer Feld 280 D-69120 Heidelberg		Telefonnr.:  Telefaxnr.:  Fernschreibnr.:
Staatsangehörigkeit (Staat): DE	Sitz oder Wohnsitz (Staat): DE	
Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.)  FLÜGEL, Rolf-M. Herrmann-Brunn-Straße 43 D-69198 Schriesheim		
Staatsangehörigkeit (Staat): DE	Sitz oder Wohnsitz (Staat): DE	
Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.)  LÖCHELT, Martin Hermann-Löns-Weg 83 D-69207 Sandhausen		
Staatsangehörigkeit (Staat): DE	Sitz oder Wohnsitz (Staat): DE	
<input checked="" type="checkbox"/> Weitere Anmelder sind auf einem Fortsetzungsblatt angegeben.		





Fortsetzung von Feld Nr. II ANMELDER

*Wird keines der folgenden Felder benutzt, so ist dieses Blatt dem Antrag nicht beizufügen.*Name und Anschrift: *(Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.)*FLOWER, Robert  
Royal North Shore Hospital  
Gore Hill NSW 2065

Staatsangehörigkeit (Staat):

AU

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

AU

Name und Anschrift: *(Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.)*WINKLER, Ingrid  
167 Stephen-Terrace  
Walkerville SA 5081

Staatsangehörigkeit (Staat):

AU

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

AU

Name und Anschrift: *(Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.)*

Staatsangehörigkeit (Staat):

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

Name und Anschrift: *(Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.)*

Staatsangehörigkeit (Staat):

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

☐

Weitere Anmelder sind auf einem zusätzlichen Fortsetzungsblatt angegeben.



Feld Nr. III ANWALT ODER GEMEINSAMER VERTRETER; ZUSTELLANSCHRIFT

Die folgende Person ist ☒ Anwalt ☐ gemeinsamer Vertreter  
und ☒ ist vom (von den) Anmelderin) bereits früher bestellt worden und vertritt ihn (sie) auch für die internationale vorläufige Prüfung.  
☐ wird hiermit bestellt; eine etwaige frühere Bestellung eines Anwalts/gemeinsamen Vertreters wird hiermit widerrufen.  
☐ wird hiermit zusätzlich zu dem bereits früher bestellten Anwalt/gemeinsamen Vertreter, nur für das Verfahren vor der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde bestellt.

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.)

SCHÜBLER, Andrea  
Truderinger Str. 246  
D-81825 München

Telefonnr.:

089/42724748

Telefaxnr.:

089/42724749

Fernschreibnr.:

☐ Dieses Kästchen ist anzukreuzen, wenn kein Anwalt oder gemeinsamer Vertreter bestellt ist und statt dessen im obigen Feld eine spezielle Zustellanschrift angegeben wird.

Feld Nr. IV ERKLÄRUNG BETREFFEND ÄNDERUNGEN

Der Anmelder wünscht, daß die mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde:

- i) ☒ die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der ursprünglich eingereichten Fassung aufnimmt.
- ii) ☐ die Änderungen nach Artikel 34  
☐ der Beschreibung (Änderungen liegen bei)  
☐ der Ansprüche (Änderungen liegen bei)  
☐ der Zeichnungen (Änderungen liegen bei)  
berücksichtigt.
- iii) ☐ die beim Internationalen Büro eingereichten Änderungen der Ansprüche nach Artikel 19 berücksichtigt (Kopie liegt bei).
- iv) ☐ die Änderungen der Ansprüche nach Artikel 19 nicht berücksichtigt, sondern als überholt ansieht.
- v) ☐ den Beginn der internationalen vorläufigen Prüfung bis zum Ablauf von 20 Monaten ab dem Prioritätsdatum aufschiebt, sofern die Behörde nicht eine Kopie nach Artikel 19 vorgenommener Änderungen oder eine Erklärung des Anmelders erhält, daß er keine solchen Änderungen vornehmen will (Regel 69.1 d)). (Dieses Kästchen darf nur angekreuzt werden, wenn die Frist nach Artikel 19 noch nicht abgelaufen ist.)

\* Wenn kein Kästchen angekreuzt wird, wird mit der internationalen vorläufigen Prüfung auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der ursprünglich eingereichten Fassung begonnen; wenn eine Kopie der Änderungen der Ansprüche nach Artikel 19 und/oder Änderungen der internationalen Anmeldung nach Artikel 34 bei der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde eingeht, bevor diese mit der Erstellung eines schriftlichen Bescheids oder des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts begonnen hat, wird jedoch die geänderte Fassung verwendet.

Feld Nr. V BENENNUNG VON STAATEN ALS AUSGEWÄHLTE STAATEN

☒ Der Anmelder benennt als ausgewählte Staaten alle auswählbaren Staaten (das heißt, alle Staaten, die bestimmt wurden und durch Kapitel II des PCT gebunden sind) ausgenommen .....

(Möchte der Anmelder bestimmte Staaten nicht auswählen, sind die Namen oder Zweibuchstaben-Codes dieser Staaten auf den obenstehenden Zeilen anzugeben.)



## Feld Nr. VI KONTROLLISTE

Dem Antrag liegen folgende Unterlagen für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung bei:

- |                                                       |         |
|-------------------------------------------------------|---------|
| 1. Änderungen nach Artikel 34                         |         |
| Beschreibung                                          | Blätter |
| Ansprüche                                             | Blätter |
| Zeichnungen                                           | Blätter |
| 2. Begleitschreiben zu den Änderungen nach Artikel 34 | Blätter |
| 3. Kopie der Änderungen nach Artikel 19               | Blätter |
| 4. Kopie einer Erklärung nach Artikel 19              | Blätter |
| 5. Sonstige (einzeln auflühren):                      | Blätter |

Von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde auszufüllen

erhalten                      nicht erhalten

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Dem Antrag liegen außerdem die nachstehend angekreuzten Unterlagen bei:

- |                                                                        |                                                                         |
|------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|
| 1. <input type="checkbox"/> unterzeichnete gesonderte Vollmacht        | 4. <input checked="" type="checkbox"/> Blatt für die Gebührenberechnung |
| 2. <input type="checkbox"/> Kopie der allgemeinen Vollmacht            | 5. <input checked="" type="checkbox"/> sonstige (einzeln auflühren):    |
| 3. <input type="checkbox"/> Begründung für das Fehlen der Unterschrift | V-Scheck Nr., 5295                                                      |

## Feld Nr. VII UNTERSCHRIFT DES ANMELDERS, ANWALTS ODER GEMEINSAMEN VERTRETERS

Der Name jeder unterzeichnenden Person ist neben der Unterschrift zu wiederholen, und es ist anzugeben, sofern sich dies nicht aus dem Antrag ergibt, in welcher Eigenschaft die Person unterzeichnet.

München, den 17. Juli 2000

*A. Schübler*

Dr. Andrea Schübler

Von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde auszufüllen

- |                                                                                                                                                                            |                                                                       |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|
| 1. Datum des tatsächlichen Eingangs des ANTRAGS:                                                                                                                           |                                                                       |
| 2. Geändertes Eingangsdatum des Antrags aufgrund von BERICHTIGUNGEN nach Regel 60.1.b):                                                                                    |                                                                       |
| 3. <input type="checkbox"/> Eingangsdatum des Antrags NACH Ablauf von 19 Monaten ab Prioritätsdatum: Punkt 4 und Punkt 5. unten, finden keine Anwendung.                   | <input type="checkbox"/> Der Anmelder wurde entsprechend unterrichtet |
| 4. <input type="checkbox"/> Eingangsdatum des Antrags INNERHALB 19 Monate ab Prioritätsdatum wegen Fristverlängerung nach Regel 80.5.                                      |                                                                       |
| 5. <input type="checkbox"/> Das Eingangsdatum des Antrags liegt nach Ablauf von 19 Monaten ab Prioritätsdatum, der verspätete Eingang ist aber nach Regel 82 ENTSCHULDIGT. |                                                                       |

Vom Internationalen Büro auszufüllen

Antrag vom IPEA erhalten am:



# VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

Absender: MIT DER INTERNATIONALEN VORLÄUFIGEN  
PRÜFUNG BEAUFTRAGTE BEHÖRDE

An:

SCHÜSSLER Andrea  
Huber & Schüssler  
Truderinger Strasse 246  
D-81825 München  
ALLEMAGNE

## PCT

MITTEILUNG ÜBER DIE ÜBERSENDUNG  
DES INTERNATIONALEN VORLÄUFIGEN  
PRÜFUNGSBERICHTS  
(Regel 71.1 PCT)

Absendedatum  
(Tag/Monat/Jahr) 20.03.2001

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts  
K 2769 - sch/msl

### WICHTIGE MITTEILUNG

Internationales Aktenzeichen  
PCT/DE99/04052

Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr)  
17/12/1999

Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr)  
17/12/1998

Anmelder

DEUTSCHES KREBSFORSCHUNGSZENTRUM STIFTUNG .ET AL

1. Dem Anmelder wird mitgeteilt, daß ihm die mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde hiermit den zu der internationalen Anmeldung erstellten internationalen vorläufigen Prüfungsbericht, gegebenenfalls mit den dazugehörigen Anlagen, übermittelt.
2. Eine Kopie des Berichts wird - gegebenenfalls mit den dazugehörigen Anlagen - dem Internationalen Büro zur Weiterleitung an alle ausgewählten Ämter übermittelt.
3. Auf Wunsch eines ausgewählten Amtes wird das Internationale Büro eine Übersetzung des Berichts (jedoch nicht der Anlagen) ins Englische anfertigen und diesem Amt übermitteln.


#### 4. ERINNERUNG

Zum Eintritt in die nationale Phase hat der Anmelder vor jedem ausgewählten Amt innerhalb von 30 Monaten ab dem Prioritätsdatum (oder in manchen Ämtern noch später) bestimmte Handlungen (Einreichung von Übersetzungen und Entrichtung nationaler Gebühren) vorzunehmen (Artikel 39 (1)) (siehe auch die durch das Internationale Büro im Formblatt PCT/IB/301 übermittelte Information).

Ist einem ausgewählten Amt eine Übersetzung der internationalen Anmeldung zu übermitteln, so muß diese Übersetzung auch Übersetzungen aller Anlagen zum internationalen vorläufigen Prüfungsbericht enthalten. Es ist Aufgabe des Anmelders, solche Übersetzungen anzufertigen und den betroffenen ausgewählten Ämtern direkt zuzuleiten.

Weitere Einzelheiten zu den maßgebenden Fristen und Erfordernissen der ausgewählten Ämter sind Band II des PCT-Leitfadens für Anmelder zu entnehmen.

Name und Postanschrift der mit der internationalen Prüfung beauftragten Behörde

 Europäisches Patentamt - P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL-2280 HV Rijswijk - Pays Bas  
Tel. +31 70 340 - 2040 Tx: 31 651 epo nl  
Fax: +31 70 340 - 3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Sinanovic, E

Tel. +31 70 340-2672







# VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

## PCT

### INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT



(Artikel 36 und Regel 70 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts K 2769 - sch/msl	<b>WEITERES VORGEHEN</b> siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts (Formblatt PCT/IPEA/416)	
Internationales Aktenzeichen PCT/DE99/04052	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 17/12/1999	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 17/12/1998
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK C12N15/867		
Anmelder DEUTSCHES KREBSFORSCHUNGSZENTRUM STIFTUNG ..ET AL		

1. Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.
2. Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 5 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.  
  
☒ Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).  
  
 Diese Anlagen umfassen insgesamt 2 Blätter.

3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:

- I ☒ Grundlage des Berichts
- II ☐ Priorität
- III ☐ Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
- IV ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
- V ☒ Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
- VI ☐ Bestimmte angeführte Unterlagen
- VII ☐ Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
- VIII ☒ Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Datum der Einreichung des Antrags  17/07/2000	Datum der Fertigstellung dieses Berichts  20.03.2001
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde:   Europäisches Patentamt - P.B. 5818 Patentaan 2 NL-2280 HV Rijswijk - Pays Bas Tel. +31 70 340 - 2040 Tx: 31 651 epo nl Fax: +31 70 340 - 3016	Bevollmächtigter Bediensteter  Cupido, M  Tel. Nr. +31 70 340 3374  



**INTERNATIONALER VORLÄUFIGER  
PRÜFUNGSBERICHT**Internationales Aktenzeichen **PCT/DE99/04052****I. Grundlage des Berichts**

1. Dieser Bericht wurde erstellt auf der Grundlage (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigelegt, weil sie keine Änderungen enthalten.*):  
**Beschreibung, Seiten:**

1-14                      ursprüngliche Fassung

**Patentansprüche, Nr.:**

1-16                      ursprüngliche Fassung

**Zeichnungen, Blätter:**

1/7-7/7                      ursprüngliche Fassung

2. Hinsichtlich der **Sprache**: Alle vorstehend genannten Bestandteile standen der Behörde in der Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht worden ist, zur Verfügung oder wurden in dieser eingereicht, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

Die Bestandteile standen der Behörde in der Sprache: zur Verfügung bzw. wurden in dieser Sprache eingereicht; dabei handelt es sich um

- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der Internationalen Recherche eingereicht worden ist (nach Regel 23.1(b)).
- ☐ die Veröffentlichungssprache der Internationalen Anmeldung (nach Regel 48.3(b)).
- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung eingereicht worden ist (nach Regel 55.2 und/oder 55.3).

3. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das:

- ☐ in der Internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
- ☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
- ☐ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfassten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

4. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:



**INTERNATIONALER VORLÄUFIGER  
PRÜFUNGSBERICHT**Internationales Aktenzeichen **PCT/DE99/04052**

- ☐ Beschreibung,      Seiten:  
☐ Ansprüche,      Nr.:  
☐ Zeichnungen,      Blatt:

5. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)).

*(Auf Ersatzblätter, die solche Änderungen enthalten, ist unter Punkt 1 hinzuweisen; sie sind diesem Bericht beizufügen).*

6. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

**V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung**

**1. Feststellung**

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche 1-16
	Nein: Ansprüche
Erfinderische Tätigkeit (ET)	Ja: Ansprüche 1-16
	Nein: Ansprüche
Gewerbliche Anwendbarkeit (GA)	Ja: Ansprüche 1-16
	Nein: Ansprüche

- 2. Unterlagen und Erklärungen**  
**siehe Beiblatt**

**VIII. Bestimmte Bemerkungen zur Internationalen Anmeldung**

Zur Klarheit der Patentansprüche, der Beschreibung und der Zeichnungen oder zu der Frage, ob die Ansprüche in vollem Umfang durch die Beschreibung gestützt werden, ist folgendes zu bemerken:  
**siehe Beiblatt**



**INTERNATIONALER VORLÄUFIGER  
PRÜFUNGSBERICHT - BEIBLATT**

Internationales Aktenzeichen PCT/DE99/04052

**Zu Punkt V**

Begründete Feststellung nach Regel 66.2(a)(ii) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

**I Dokumente**

Es wird auf die folgenden Dokumente verwiesen:

D1: J. Gen. Virology 78, 2549-2564 (Helps et al., 1997)

D2: J. Virology 71, 6727-6741 (Winkler et al., 1997)

**II Neuheit**

Der beanspruchte Sachverhalt der Ansprüche 1-16 ist neu, und diese Ansprüche sind im Hinblick auf Artikel 33(2) PCT gewährbar.

**III Erfinderische Tätigkeit**

1. D1 wird im Zusammenhang mit der erfinderische Tätigkeit, als nächstliegender Stand der Technik angesehen. D1 beschreibt die vollständige DNA-Sequenz des feline Foamy Virus F-17 und auf Seite 2549, die Vorteile die sich beim Gebrauch der auf diesem Virus basierenden Vektoren bei der Einführung von heterologen DNA in Säugerzellen, wie zum Beispiel einen relativ grosses Genom und einem breiten Wirtspektrum, ergeben. Im Hinblick auf D1 ist die Aufgabe der vorliegenden Erfindung darin zu sehen, solche, auf feline Foamy Virus (FeFV) basierende Vektoren zur Expression von Fremdgenen in Säugerzellen zu Verfügung zu stellen.

2. Der Vektor, der in dieser Anmeldung offenbart und beansprucht wird, umfaßt eine erste DNA-Sequenz, die dem reversen Transkript eines Teils des FeFV entspricht, und eine zweite DNA-Sequenz, die die Propagation in Bakterien erlaubt. So ein DNA-Konstrukt wird in D2 offenbart. In diesem Artikel wird beschrieben, daß ein 4,7 kbp Fragment vom FeFV in pUC18 inseriert und in





**INTERNATIONALER VORLÄUFIGER  
PRÜFUNGSBERICHT - BEIBLATT**

Internationales Aktenzeichen PCT/DE99/04052

Bakterien propagiert werden kann. D2 beschreibt auch, daß wiederholte Bemühungen einer Klonierung dieses 4,7 kbp Fragment in verschiedene Vektoren ohne Erfolg blieben. Die Erfindung ist deswegen als erfinderisch zu betrachten und der Sachverhalt der Ansprüche 1-16 steht im Einklang mit Artikel 33(3) PCT.

**Zu Punkt VIII**

Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

1. Ansprüche 7 und 15 betreffen retrovirale Vektoren, die für neutralisierende Epitope des Felines Immundefizienzvirus (FIV) oder des Humanen Immunodefizienzvirus (HIV) kodieren, und die Verwendung dieser Vektoren zur Herstellung eines Arzneimittels. Solche Vektoren sind jedoch nicht in der Anmeldung offenbart, und deswegen sind die Ansprüche 7 und 15 nicht durch die Beschreibung gestützt und verstoßen Sie gegen Artikel 6 PCT.
2. Für die Bedürfnisse in Zusammenhang mit der Hinterlegung von Plasmiden enthält der PCT keine Kriterien. Bei Eintritt in die regionale Phase wird das EPA den Anmelder bitten, eine Empfangsbescheinigung oder gleichwertigen Nachweis für die Hinterlegung des Plasmids pFeFV-7 vorzulegen, um sicherzustellen, daß die Erfordernisse des Artikels 83 und 28 EPÜ erfüllt sind.
3. Die internationale vorläufige Prüfungsbehörde möchte darauf hinweisen, daß der Anspruch 13 sich auf ein transgenes Tier bezieht, wobei Menschen nicht ausdrücklich ausgenommen werden.



VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT  
AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

Patentanwälte  
Huber & Schüppler  
Truderinger Str. 246  
81825 München

Absender: ANMELDEAMT  
wie unten angegeben

Mitteilung über den Eingang von Unterlagen  
einer vorgeblichen internationalen Anmeldung  
gemäß PCT Verwaltungsrichtlinien Abschnitt 301

EINGEGANGEN

29. DEZ. 1999

Erled. ....

ABSENDEDATUM beim Anmeldeamt

23. 12. 99

Name und Anschrift des Anwalts, falls kein Anwalt, des Anmelders

AKTENZEICHEN DES ANMELDERS ODER ANWALTS

K 2769 - sch/msl

KENNZEICHNUNG DER VORGEBLICHEN INTERNATIONALEN ANMELDUNG

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE 99/04052

Bezeichnung der Erfindung

FV-Vektoren zur Expression von Fremdgenen ...

Anmelder (Name)

Deutsches Krebsforschungszentrum ...

MITTEILUNG

Hiermit wird dem Anmelder mitgeteilt, daß beim Anmeldeamt am

17. Dez. 1999

(Eingangsdatum der Unterlagen)

Unterlagen eingegangen sind, die eine internationale Anmeldung darstellen sollen.

Der Anmelder wird darauf hingewiesen, daß diese Unterlagen vom Anmeldeamt in Bezug auf die Erfordernisse von Artikel 11 Absatz 1, d.h. auf ihre Übereinstimmung mit den Erfordernissen für die Zuerkennung des internationalen Anmeldedatums, noch nicht geprüft worden sind.

Den Unterlagen ist vorläufig das oben angegebene internationale Aktenzeichen zugewiesen worden. Der Anmelder wird hiermit aufgefordert, im Schriftverkehr mit dem Anmeldeamt auf dieses Aktenzeichen Bezug zu nehmen.

DAS ANMELDEAMT

Name und Postanschrift des Anmeldeamts

DEUTSCHES PATENT- UND MARKENAMT  
80297 München

Telefaxnr. (0 89) 21 95 - 22 21

Bevollmächtigter Bediensteter

*Ammel*

Telefonnr. (0 89) 21 95 - 22 68 3240



5000  
09/868502

# VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

## PCT

REC'D 21 MAY 2001



WIPO PCT

### INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts K 2769 - sch/msl	<b>WEITERES VORGEHEN</b> siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts (Formblatt PCT/IPEA/416)	
Internationales Aktenzeichen PCT/DE99/04052	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 17/12/1999	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Tag) 17/12/1998
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK C12N15/867		
Anmelder DEUTSCHES KREBSFORSCHUNGSZENTRUM STIFTUNG ..ET AL		

1. Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.
2. Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 5 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.  <input checked="" type="checkbox"/> Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).  Diese Anlagen umfassen insgesamt 2 Blätter.
3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:  I <input checked="" type="checkbox"/> Grundlage des Berichts II <input type="checkbox"/> Priorität III <input type="checkbox"/> Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit IV <input type="checkbox"/> Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung V <input checked="" type="checkbox"/> Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit: Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung VI <input type="checkbox"/> Bestimmte angeführte Unterlagen VII <input type="checkbox"/> Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung VIII <input checked="" type="checkbox"/> Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Datum der Einreichung des Antrags  17/07/2000	Datum der Fertigstellung dieses Berichts  20.03.2001
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde:   Europäisches Patentamt - P.B. 5818 Patentlaan 2 NL-2280 HV Rijswijk - Pays Bas Tel. +31 70 340 - 2040 Tx: 31 651 epo nl Fax: +31 70 340 - 3016	Bevollmächtigter Bediensteter  Cupido, M  Tel. Nr. +31 70 340 3374  



I. Grundlage des Berichts

1. Hinsichtlich der **Bestandteile** der internationalen Anmeldung (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigefügt, weil sie keine Änderungen enthalten (Regeln 70.16 und 70.17)*):  
**Beschreibung, Seiten:**

1-14                      ursprüngliche Fassung

**Patentansprüche, Nr.:**

1-16                      eingegangen am                      02/02/2001    mit Schreiben vom    02/02/2001

**Zeichnungen, Blätter:**

1/7-7/7                      ursprüngliche Fassung

2. Hinsichtlich der **Sprache**: Alle vorstehend genannten Bestandteile standen der Behörde in der Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht worden ist, zur Verfügung oder wurden in dieser eingereicht, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

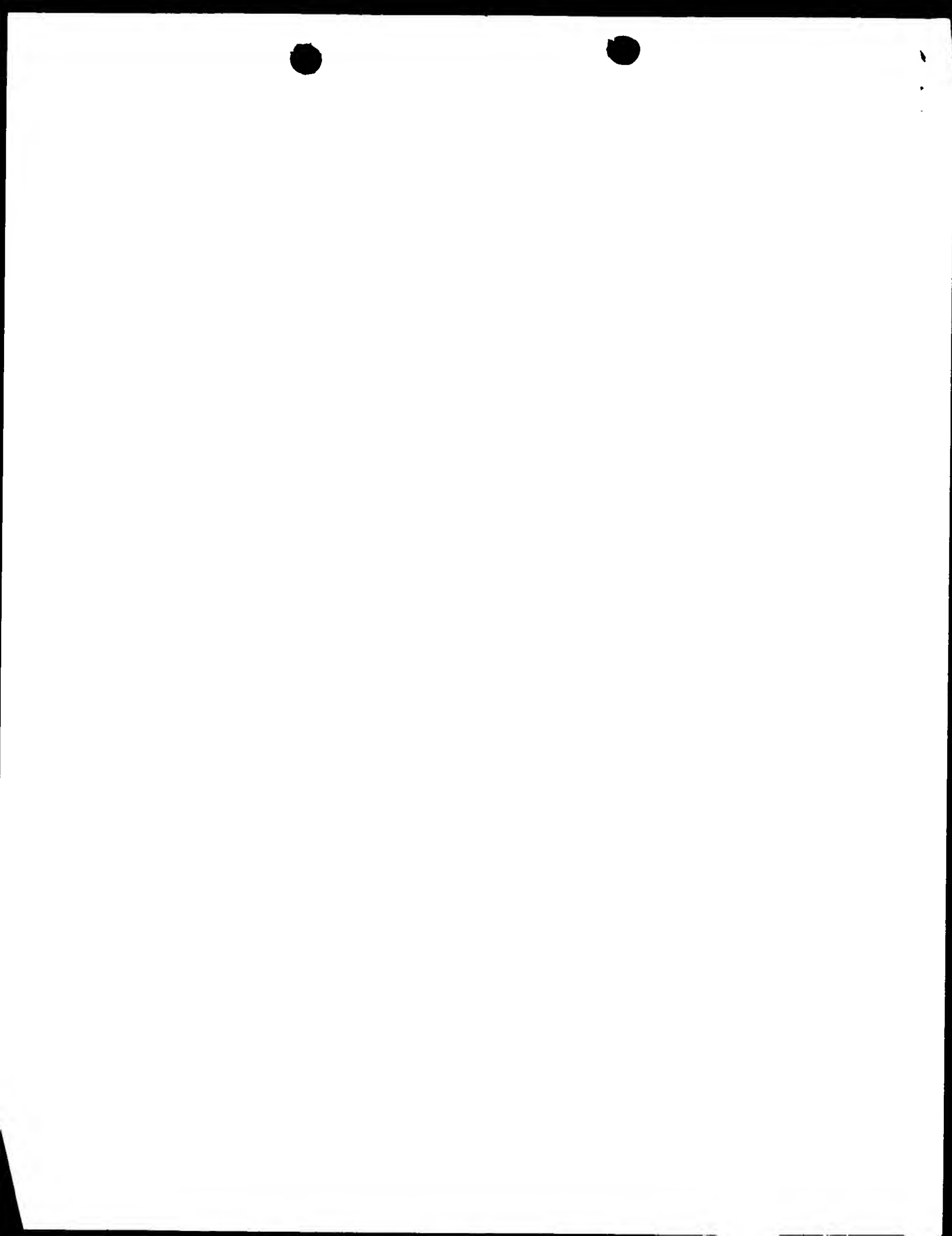
Die Bestandteile standen der Behörde in der Sprache: zur Verfügung bzw. wurden in dieser Sprache eingereicht; dabei handelt es sich um

- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (nach Regel 23.1(b)).
- ☐ die Veröffentlichungssprache der internationalen Anmeldung (nach Regel 48.3(b)).
- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung eingereicht worden ist (nach Regel 55.2 und/oder 55.3).

3. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das:

- ☐ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
- ☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
- ☐ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfassten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

4. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:





# INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/DE99/04052

- ☐ Beschreibung,      Seiten:  
☐ Ansprüche,      Nr.:  
☐ Zeichnungen,      Blatt:

5. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)).

*(Auf Ersatzblätter, die solche Änderungen enthalten, ist unter Punkt 1 hinzuweisen; sie sind diesem Bericht beizufügen).*

6. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

## V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

### 1. Feststellung

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche	1-16
	Nein: Ansprüche	
Erfinderische Tätigkeit (ET)	Ja: Ansprüche	1-16
	Nein: Ansprüche	
Gewerbliche Anwendbarkeit (GA)	Ja: Ansprüche	1-16
	Nein: Ansprüche	

2. Unterlagen und Erklärungen  
**siehe Beiblatt**

## VIII. Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Zur Klarheit der Patentansprüche, der Beschreibung und der Zeichnungen oder zu der Frage, ob die Ansprüche in vollem Umfang durch die Beschreibung gestützt werden, ist folgendes zu bemerken:  
**siehe Beiblatt**



**Zu Punkt V**

Begründete Feststellung nach Regel 66.2(a)(ii) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

**I Dokumente**

Es wird auf die folgenden Dokumente verwiesen:

D1: J. Gen. Virology **78**, 2549-2564 (Helps et al., 1997)

D2: J. Virology **71**, 6727-6741 (Winkler et al., 1997)

**II Neuheit**

Der beanspruchte Sachverhalt der Ansprüche 1-16 ist neu, und diese Ansprüche sind im Hinblick auf Artikel 33(2) PCT gewährbar.

**III Erfinderische Tätigkeit**

1. D1 wird im Zusammenhang mit der erfinderische Tätigkeit, als nächstliegender Stand der Technik angesehen. D1 beschreibt die vollständige DNA-Sequenz des feline Foamy Virus F-17 und auf Seite 2549, die Vorteile die sich beim Gebrauch der auf diesem Virus basierenden Vektoren bei der Einführung von heterologen DNA in Säugerzellen, wie zum Beispiel einen relativ grosses Genom und einem breiten Wirtspektrum, ergeben. Im Hinblick auf D1 ist die Aufgabe der vorliegenden Erfindung darin zu sehen, solche, auf feline Foamy Virus (FeFV) basierende Vektoren zur Expression von Fremdgenen in Säugerzellen zu Verfügung zu stellen.

2. Der Vektor, der in dieser Anmeldung offenbart und beansprucht wird, umfaßt eine erste DNA-Sequenz, die dem reversen Transkript eines Teils des FeFv entspricht, und eine zweite DNA-Sequenz, die die Propagation in Bakterien erlaubt. So ein DNA-Konstrukt wird in D2 offenbart. In diesem Artikel wird beschrieben, daß ein 4.7 kbp Fragment vom FeFV in pUC18 inseriert und in



Bakterien propagiert werden kann. D2 beschreibt auch, daß wiederholte Bemühungen einer Klonierung dieses 4,7 kbp Fragment in verschiedene Vektoren ohne Erfolg blieben. Die Erfindung ist deswegen als erfinderisch zu betrachten und der Sachverhalt der Ansprüche 1-16 steht im Einklang mit Artikel 33(3) PCT.

### **Zu Punkt VIII**

#### **Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung**

1. Ansprüche 7 und 15 betreffen retrovirale Vektoren, die für neutralisierende Epitope des Felines Immundefizienzvirus (FIV) oder des Humanen Immunodefizienzvirus (HIV) kodieren, und die Verwendung diese Vektoren zur Herstellung eines Arzneimittels. Solche Vektoren sind jedoch nicht in der Anmeldung offenbart, und deswegen sind die Ansprüche 7 und 15 nicht durch die Beschreibung gestützt und verstoßen Sie gegen Artikel 6 PCT.

2. Für die Bedürfnisse in Zusammenhang mit der Hinterlegung von Plasmiden enthält der PCT keine Kriterien. Bei Eintritt in die regionale Phase wird das EPA den Anmelder bitten, eine Empfangsbescheinigung oder gleichwertigen Nachweis für die Hinterlegung des Plasmids pFeFV-7 vorzulegen, um sicherzustellen, daß die Erfordernisse des Artikels 83 und 28 EPÜ erfüllt sind.

3. Die internationale vorläufige Prüfungsbehörde möchte darauf hinweisen, daß der Anspruch 13 sich auf ein transgenes Tier bezieht, wobei Menschen nicht ausdrücklich ausgenommen werden.



# VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

## PCT

REC'D 23 MAR 2001

## INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)



Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts K 2769 - sch/msl	<b>WEITERES VORGEHEN</b> siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts (Formblatt PCT/IPEA/416)	
Internationales Aktenzeichen PCT/DE99/04052	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 17/12/1999	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Tag) 17/12/1998
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK C12N15/867		
Anmelder DEUTSCHES KREBSFORSCHUNGSZENTRUM STIFTUNG ..ET AL		

1. Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.
2. Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 5 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.  
  
☒ Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).

Diese Anlagen umfassen insgesamt 2 Blätter.

3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:

- I ☒ Grundlage des Berichts
- II ☐ Priorität
- III ☐ Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
- IV ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
- V ☒ Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
- VI ☐ Bestimmte angeführte Unterlagen
- VII ☐ Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
- VIII ☒ Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Datum der Einreichung des Antrags  17/07/2000	Datum der Fertigstellung dieses Berichts  20.03.2001
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde:   Europäisches Patentamt - P.B. 5818 Patentlaan 2 NL-2280 HV Rijswijk - Pays Bas Tel. +31 70 340 - 2040 Tx: 31 651 epo nl Fax: +31 70 340 - 3016	Bevollmächtigter Bediensteter  Cupido, M  Tel. Nr. +31 70 340 3374  





# INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/DE99/04052

## I. Grundlage des Berichts

1. Dieser Bericht wurde erstellt auf der Grundlage (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigelegt, weil sie keine Änderungen enthalten.*):

### Beschreibung, Seiten:

1-14                      ursprüngliche Fassung

### Patentansprüche, Nr.:

1-16                      eingereicht mit Schreiben vom                      02.02.2001

### Zeichnungen, Blätter:

1/7-7/7                      ursprüngliche Fassung

2. Hinsichtlich der **Sprache**: Alle vorstehend genannten Bestandteile standen der Behörde in der Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht worden ist, zur Verfügung oder wurden in dieser eingereicht, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

Die Bestandteile standen der Behörde in der Sprache: zur Verfügung bzw. wurden in dieser Sprache eingereicht; dabei handelt es sich um

- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (nach Regel 23.1(b)).
- ☐ die Veröffentlichungssprache der internationalen Anmeldung (nach Regel 48.3(b)).
- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung eingereicht worden ist (nach Regel 55.2 und/oder 55.3).

3. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das:

- ☐ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
- ☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
- ☐ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfassten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

4. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:



# INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/DE99/04052

- ☐ Beschreibung,      Seiten:
- ☐ Ansprüche,      Nr.:
- ☐ Zeichnungen,      Blatt:

5. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)).

*(Auf Ersatzblätter, die solche Änderungen enthalten, ist unter Punkt 1 hinzuweisen; sie sind diesem Bericht beizufügen).*

6. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

## V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

### 1. Feststellung

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche	1-16
	Nein: Ansprüche	
Erfinderische Tätigkeit (ET)	Ja: Ansprüche	1-16
	Nein: Ansprüche	
Gewerbliche Anwendbarkeit (GA)	Ja: Ansprüche	1-16
	Nein: Ansprüche	

2. Unterlagen und Erklärungen  
**siehe Beiblatt**

## VIII. Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Zur Klarheit der Patentansprüche, der Beschreibung und der Zeichnungen oder zu der Frage, ob die Ansprüche in vollem Umfang durch die Beschreibung gestützt werden, ist folgendes zu bemerken:  
**siehe Beiblatt**



**Zu Punkt V**

Begründete Feststellung nach Regel 66.2(a)(ii) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

**I Dokumente**

Es wird auf die folgenden Dokumente verwiesen:

D1: J. Gen. Virology **78**, 2549-2564 (Helps et al., 1997)

D2: J. Virology **71**, 6727-6741 (Winkler et al., 1997)

**II Neuheit**

Der beanspruchte Sachverhalt der Ansprüche 1-16 ist neu, und diese Ansprüche sind im Hinblick auf Artikel 33(2) PCT gewährbar.

**III Erfinderische Tätigkeit**

1. D1 wird im Zusammenhang mit der erfinderischen Tätigkeit, als nächstliegender Stand der Technik angesehen. D1 beschreibt die vollständige DNA-Sequenz des feline Foamy Virus F-17 und auf Seite 2549, die Vorteile die sich beim Gebrauch der auf diesem Virus basierenden Vektoren bei der Einführung von heterologen DNA in Säugerzellen, wie zum Beispiel einen relativ grosses Genom und einem breiten Wirtsspektrum, ergeben. Im Hinblick auf D1 ist die Aufgabe der vorliegenden Erfindung darin zu sehen, solche, auf feline Foamy Virus (FeFV) basierende Vektoren zur Expression von Fremdgenen in Säugerzellen zu Verfügung zu stellen.

2. Der Vektor, der in dieser Anmeldung offenbart und beansprucht wird, umfaßt eine erste DNA-Sequenz, die dem reversen Transkript eines Teils des FeFV entspricht, und eine zweite DNA-Sequenz, die die Propagation in Bakterien erlaubt. So ein DNA-Konstrukt wird in D2 offenbart. In diesem Artikel wird beschrieben, daß ein 4,7 kbp Fragment vom FeFV in pUC18 inseriert und in



Bakterien propagiert werden kann. D2 beschreibt auch, daß wiederholte Bemühungen einer Klonierung dieses 4,7 kbp Fragment in verschiedene Vektoren ohne Erfolg blieben. Die Erfindung ist deswegen als erfinderisch zu betrachten und der Sachverhalt der Ansprüche 1-16 steht im Einklang mit Artikel 33(3) PCT.

### **Zu Punkt VIII**

Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

1. Ansprüche 7 und 15 betreffen retrovirale Vektoren, die für neutralisierende Epitope des Felinen Immundefizienzvirus (FIV) oder des Humanen Immunodefizienzvirus (HIV) kodieren, und die Verwendung dieser Vektoren zur Herstellung eines Arzneimittels. Solche Vektoren sind jedoch nicht in der Anmeldung offenbart, und deswegen sind die Ansprüche 7 und 15 nicht durch die Beschreibung gestützt und verstoßen Sie gegen Artikel 6 PCT.

2. Für die Bedürfnisse in Zusammenhang mit der Hinterlegung von Plasmiden enthält der PCT keine Kriterien. Bei Eintritt in die regionale Phase wird das EPA den Anmelder bitten, eine Empfangsbescheinigung oder gleichwertigen Nachweis für die Hinterlegung des Plasmids pFeFV-7 vorzulegen, um sicherzustellen, daß die Erfordernisse des Artikels 83 und 28 EPÜ erfüllt sind.

3. Die internationale vorläufige Prüfungsbehörde möchte darauf hinweisen, daß der Anspruch 13 sich auf ein transgenes Tier bezieht, wobei Menschen nicht ausdrücklich ausgenommen werden.





Unser Zeichen: K 2769 - sch / wd

### **Ansprüche**

1. Retroviraler Vektor zur Einführung einer gewünschten, exprimierbaren DNA in eine Säugerzelle, wobei der retrovirale Vektor folgende Sequenzen umfaßt: Eine erste DNA-Sequenz, die dem reversen Transkript mindestens eines Teils eines felineen Foamyvirus (FeFV) entspricht, und eine zweite DNA-Sequenz, die die Propagation in Bakterien erlaubt.  
5
2. Retroviraler Vektor nach Anspruch 1, wobei in dem Vektor weiter eine gewünschte exprimierbare Fremd-DNA enthalten ist.  
10
3. Retroviraler Vektor nach Anspruch 1 oder 2, wobei die erste DNA-Sequenz das reverse Transkript des gesamten Foamyvirus umfaßt.  
15
4. Retroviraler Vektor nach einem der Ansprüche 1 bis 3, wobei die erste DNA-Sequenz sowohl die 5'LTR als auch die 3'LTR eines Foamyvirus umfaßt.  
20
5. Retroviraler Vektor nach einem der Ansprüche 1 bis 4, wobei die zweite DNA-Sequenz in den 5'LTR-Bereich und/oder 3'LTR-Bereich des Foamyvirus inseriert ist.
- 25 6. Retroviraler Vektor nach einem der Ansprüche 1 bis 5, der zusätzlich ein Gen enthält, das einen nachweisbaren phänotypischen Marker codiert.
- 30 7. Retroviraler Vektor nach einem der Ansprüche 2 bis 6, wobei die Fremd-DNA für neutralisierende Epitope des felineen Immundefizienzvirus (FIV) oder des menschlichen Immundefizienzvirus (HIV) codiert.



8. Retroviraler Vektor nach einem der Ansprüche 1 bis 7, wobei die erste DNA-Sequenz jene des bei der DSMZ am 23. November 1998 hinterlegten Plasmids pFeFV-7 (DSM 12514) ist.

5

9. Plasmid, den retroviralen Vektor nach einem der Ansprüche 1 bis 8 enthaltend.

10. Zelle, das Plasmid nach Anspruch 9 enthaltend.

10

11. Zelle nach Anspruch 10, die eine Tierzelle ist.

12. Zelle nach Anspruch 11, die eine Säugerzelle ist.

15

13. Transgenes Tier, den retroviralen Vektor nach einem der Ansprüche 1 bis 8 oder das Plasmid nach Anspruch 9 enthaltend.

20

14. Verwendung des Vektors nach einem der Ansprüche 1 bis 8 oder des Plasmids nach Anspruch 9 zur Herstellung eines Arzneimittels zur Vakzinierung.

25

15. Verwendung des Vektors nach Anspruch 7 zur Herstellung eines Arzneimittels zur Vakzinierung von Katzen gegen FIV oder Menschen gegen HIV.

30

16. Verwendung des Vektors nach einem der Ansprüche 1 bis 8 oder des Plasmids nach Anspruch 9 zur Herstellung eines Arzneimittels zur gentherapeutischen Behandlung von Patienten.



VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT  
ZUM PATENTVERWALTUNGSGEBIET DES PATENTVEREINS

PCT

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts <b>K 2769 - sch/msl</b>	<b>WEITERES VORGEHEN</b> siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5	
Internationales Aktenzeichen <b>PCT/DE 99/ 04052</b>	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) <b>17/12/1999</b>	(Frühestes) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) <b>17/12/1998</b>
Anmelder  <b>DEUTSCHES KREBSFORSCHUNGSZENTRUM STIFTUNG . . ET AL</b>		

Dieser internationale Recherchenbericht wurde von der Internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem Internationalen Büro übermittelt.

Dieser internationale Recherchenbericht umfaßt insgesamt 3 Blätter.

☒ Darüber hinaus liegt ihm jeweils eine Kopie der in diesem Bericht genannten Unterlagen zum Stand der Technik bei.

1. Grundlage des Berichts

- a. Hinsichtlich der **Sprache** ist die internationale Recherche auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der Sprache durchgeführt worden, in der sie eingereicht wurde, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

☐ Die internationale Recherche ist auf der Grundlage einer bei der Behörde eingereichten Übersetzung der internationalen Anmeldung (Regel 23.1 b)) durchgeführt worden.

- b. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale Recherche auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das

☐ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.

☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.

☒ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.

☒ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.

☒ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.

☒ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfaßten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

2. ☐ Bestimmte Ansprüche haben sich als nicht recherchierbar erwiesen (siehe Feld I).

3. ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung (siehe Feld II).

4. Hinsichtlich der **Bezeichnung der Erfindung**

☐ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☒ wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt:

**FOAMY-VIRUS-VEKTOREN ZUR EXPRESSION VON FREMDGENEN IN SÄGERN UND DEREN VERWENDUNG**

5. Hinsichtlich der **Zusammenfassung**

☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☐ wurde der Wortlaut nach Regel 38.2b) in der in Feld III angegebenen Fassung von der Behörde festgesetzt. Der Anmelder kann der Behörde innerhalb eines Monats nach dem Datum der Absendung dieses internationalen Recherchenberichts eine Stellungnahme vorlegen.

6. Folgende Abbildung der **Zeichnungen** ist mit der Zusammenfassung zu veröffentlichen: Abb. Nr. —

☐ wie vom Anmelder vorgeschlagen

☐ keine der Abb.

☐ weil der Anmelder selbst keine Abbildung vorgeschlagen hat.

☐ weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet.



## INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

/DE 99/04052

## A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 C12N15/867 C12N5/10 A01K67/027 A61K48/00

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

## B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 C12N A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

## C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	HELPS CR UND HARBOUR DA: "Comparison of the complete sequence of feline spumavirus with those of the primate spumaviruses reveals a shorter gag gene" JOURNAL OF GENERAL VIROLOGY, Bd. 78, Nr. 10, Oktober 1997 (1997-10), Seiten 2549-2564, XP002135716 READING GB Seite 2549, rechte Spalte, letzter Absatz --- -/--	1-6,9-12

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen☒ Siehe Anhang Patentfamilie

## Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&amp;" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

14. April 2000

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

09/05/2000

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P. B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl.  
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Cupido, M





## C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	<p>WINKLER I ET AL: "Characterization of the genome of feline foamy virus and its proteins shows distinct features different from those of primate spumaviruses"</p> <p>JOURNAL OF VIROLOGY, Bd. 71, Nr. 9, September 1997 (1997-09), Seiten 6727-6741, XP002135717</p> <p>AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY US in der Anmeldung erwähnt Seite 6728, rechte Spalte, Absatz 2 -Seite 6729</p> <p>---</p>	1-6,9-12
A	<p>SCHMIDT M ET AL: "REPLICATING FOAMY VIRUS-BASED VECTORS DIRECTING HIGH LEVEL EXPRESSION OF FOREIGN GENES"</p> <p>VIROLOGY,US,RAVEN PRESS, NEW YORK, NY, Bd. 210, 20. Juni 1995 (1995-06-20), Seiten 167-178, XP000674745 ISSN: 0042-6822 das ganze Dokument</p> <p>---</p>	1-6,9-16
A	<p>DE 43 18 387 A (BAYER AG) 8. Dezember 1994 (1994-12-08) das ganze Dokument</p> <p>---</p>	1-6,9-16
A	<p>WO 98 35024 A (SWITZER WILLIAM M ;HENEINE WALID (US); US HEALTH (US); BROWN JENNI) 13. August 1998 (1998-08-13) Seite 6, Zeile 21 - Zeile 35</p> <p>-----</p>	1-6,9-16



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

/DE 99/04052

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)		Publication date
DE 4318387	A	08-12-1994	EP	0632129 A	04-01-1995
			JP	6343477 A	20-12-1994
			US	5646032 A	08-07-1997
-----					
WO 9835024	A	13-08-1998	US	5882912 A	16-03-1999
			AU	6156298 A	26-08-1998
-----					



1370 1380 1390 1400 1410 1420 1430 1440  
TTGAGTGAAATATAAATTAAGCTGAGGAGAATAATCCCTAGGGACCTTACCTTACTGAGGAAGGATGGCTCGTGAGTTAA  
gag MetAlaArgGluLeu

1450 1460 1470 1480 1490 1500 1510 1520  
ATCCTCTCCAATTACAGCAACTGTATATAAATAATGGTTTACAACCTAATCCAGGACATGGAGATGTTATTGCTGTCAGA  
AsnProLeuGlnLeuGlnGlnLeuTyrIleAsnAsnGlyLeuGlnProAsnProGlyHisGlyAspValIleAlaValArg

1530 1540 1550 1560 1570 1580 1590 1600  
TTTACAGGAGGACCTTGGGGTCCAGGTGATAGATGGACTAGAGTGGCAATACGATTACAAGATAACACAGGGCAACCTTT  
PheThrGlyGlyProTrpGlyProGlyAspArgTrpThrArgValAlaIleArgLeuGlnAspAsnThrGlyGlnProLeu

1610 1620 1630 1640 1650 1660 1670 1680  
ACAGGTTCTGGATATGGCTTGGAACTGGGATAATAAATCTGAGAGAGGATATCTTGATAGCAGGACCGTATAATTTAA  
GlnValProGlyTyrGlyLeuGluProGlyIleIleAsnLeuArgGluAspIleLeuIleAlaGlyProTyrAsnLeu

1690 1700 1710 1720 1730 1740 1750 1760  
TAAGAAGTGCCTTTTGGACTTAGAGCCTGCCAGAGGACCTGAAAGACATGGTCTCTTGGAGATGGCAGATTACAGCCT  
IleArgThrAlaPheLeuAspLeuGluProAlaArgGlyProGluArgHisGlyProPheGlyAspGlyArgLeuGlnPro

1770 1780 1790 1800 1810 1820 1830 1840  
GGAGATGGTTTATCTGAAGGGTTTCAACCTATCACTGATGAAGAAATGCAAGCAGAAGTAGGAAGTATTGGTGCTGCTAG  
GlyAspGlyLeuSerGluGlyPheGlnProIleThrAspGluGluMetGlnAlaGluValGlyThrIleGlyAlaAlaArg

1850 1860 1870 1880 1890 1900 1910 1920  
AAATGAGATAAGATTGTTACGAGAAGCCTTACAGAGGTTACAAGTTGGAGGTGTGGGTAGACCTATACCAGGAGCAATCT  
AsnGluIleArgLeuLeuArgGluAlaLeuGlnArgLeuGlnValGlyGlyValGlyArgProIleProGlyAlaIle

1930 1940 1950 1960 1970 1980 1990 2000  
TACAGCCACAACCAAGTAATAGGGCCAGTAATACCGATTAATCATCTTAGGTCAGTTATTGGTAATACTCCACCAAATCCA  
LeuGlnProGlnProValIleGlyProValIleProIleAsnHisLeuArgSerValIleGlyAsnThrProProAsnPro

2010 2020 2030 2040 2050 2060 2070 2080  
CGAGATGTGCGCCCTATGGCTTGAAGATCTACAGCCGCTATTGAAGGAGTATTCCTCATAGTGGACCAATCACCCTGAT  
ArgAspValAlaLeuTrpLeuGlyArgSerThrAlaAlaIleGluGlyValPheProIleValAspGlnIleThrArgMet

2090 2100 2110 2120 2130 2140 2150 2160  
GAGGGTAGTTAATGCCTTAGTAGCATCTCATCCCGGCCTAACATTGACTGAAAACGAGGCCGGAAGCTGGAACGCTGCCA  
ArgValValAsnAlaLeuValAlaSerHisProGlyLeuThrLeuThrGluAsnGluAlaGlySerTrpAsnAlaAla

2170 2180 2190 2200 2210 2220 2230 2240  
TATCAGCTTTATGGAGGAAAGCTCATGGTGCTGCAGCTCAGCATGAACTGGCAGGAGTATTGAGTGATATTAAATAAAAAG  
IleSerAlaLeuTrpArgLysAlaHisGlyAlaAlaAlaGlnHisGluLeuAlaGlyValLeuSerAspIleAsnLysLys

2250 2260 2270 2280 2290 2300 2310 2320  
GAAGGTATACAAACTGCATTCAATTTAGGAATGCAATTTACAGATGGAACTGGTCCTTAGTATGGGGAATAATCAGGAC  
GluGlyIleGlnThrAlaPheAsnLeuGlyMetGlnPheThrAspGlyAsnTrpSerLeuValTrpGlyIleIleArgThr

2330 2340 2350 2360 2370 2380 2390 2400  
TCTTTTACCAGGACAAGCCCTGGTAACCAATGCTCAGTCACAATTTGACCTAATGGGAGATGATATACAACGAGCGGAAA  
LeuLeuProGlyGlnAlaLeuValThrAsnAlaGlnSerGlnPheAspLeuMetGlyAspAspIleGlnArgAlaGlu

2410 2420 2430 2440 2450 2460 2470 2480  
ATTTCCCCAGGGTCATTAATAATTTATACACTATGCTGGGCCTTAATATACACGGGCAGAGCATTAGACCACGGGTACAA  
AsnPheProArgValIleAsnAsnLeuTyrThrMetLeuGlyLeuAsnIleHisGlyGlnSerIleArgProArgValGln

2490      2500      2510      2520      2530      2540      2550      2560  
 ACACAGCAGCAACAACCTCGATCCCGAAACCAGGGACGATCTCAACAAGGTCAACTAAATCAGCCAAGACCCCAAAATAG  
 ThrGlnGlnGlnGlnProArgSerArgAsnGlnGlyArgSerGlnGlnGlyGlnLeuAsnGlnProArgProGlnAsnArg  
 2570      2580      2590      2600      2610      2620      2630      2640  
 AAATAACCAATCTTATAGACCCCTAGACAACAACAGCAACACTCTGATGTTCCCGAACAGAGAGATTCTGAGAGGACCAT  
 AsnAsnGlnSerTyrArgProProArgGlnGlnGlnGlnHisSerAspValProGluGlnArgAspSerArgGlyPro  
 2650      2660      2670      2680      2690      2700      2710      2720  
 CGCAACCTCCTCGTGGAAGTGGAGGAGGATATAATTTAGAAGAAATCCGCAGCAGCCTCAGCGCTACGGCCAAGGACCA  
 SerGlnProProArgGlySerGlyGlyGlyTyrAsnPheArgArgAsnProGlnGlnProGlnArgTyrGlyGlnGlyPro  
 2730      2740      2750      2760      2770      2780      2790      2800  
 CCAGGACCAAACCCGTACCGACGATTCTGGAGACGGCGGTAATCCTCAACAGCAGGGACCACCACCGAACCGAGGGCCTGA  
 ProGlyProAsnProTyrArgArgPheGlyAspGlyGlyAsnProGlnGlnGlnGlyProProProAsnArgGlyProAsp  
 2810      2820      2830      2840      2850      2860      2870      2880  
 TCAAGGACCTCGGCCAGGAGGTAATCCCAGAGGAGGAGGAAGAGGTCAAGGCCCAAGAAATGGAGGAGGAAGCGTGCCGC  
 GlnGlyProArgProGlyGlyAsnProArgGlyGlyGlyArgGlyGlnGlyProArgAsnGlyGlyGlySerValPro  
 2890      2900      2910      2920      2930      2940      2950      2960  
 AGTACACACAGTGAAAACGTCCGAAAACGAAACTAAAAATGGATCTGCTGAAGCCGTTGATAGTGGAAGAAAGGGGGTA  
 GlnTyrThrGln\*\*\*  
 pol MetAspLeuLeuLysProLeuIleValGluArgLysGlyVal  
 2970      2980      2990      3000      3010      3020      3030      3040  
 AAGATTAAAGGTTACTGGGACTCCCAAGCCGATGTTACCTGTGTTCCGAAAAGCTTGCTTCAAGGAGAAGAACCTGTTAG  
 LysIleLysGlyTyrTrpAspSerGlnAlaAspValThrCysValProLysSerLeuLeuGlnGlyGluGluProValArg  
 3050      3060      3070      3080      3090      3100      3110      3120  
 GCAACAAAATGTGACAACTATACATGGAACGCAGGAAGAAGATGTATATTATGTAAATTTAAAGATAGATGGTAGAAGAA  
 GlnGlnAsnValThrThrIleHisGlyThrGlnGluGluAspValTyrTyrValAsnLeuLysIleAspGlyArgArg  
 3130      3140      3150      3160      3170      3180      3190      3200  
 TTAATACAGAAGTGATAGGGACAACCTTTGGACTATGCTATTATAACTCCTGGAGACGTACCTTGGATCTTGAAGAAACCT  
 IleAsnThrGluValIleGlyThrThrLeuAspTyrAlaIleIleThrProGlyAspValProTrpIleLeuLysLysPro  
 3210      3220      3230      3240      3250      3260      3270      3280  
 TTAGAATTGACTATTAAATTGGATTGAGAAGAGCAGCAAAGAAGCTTTACTTAACAACTCCATTTTATCTAAAAAAGGGGAA  
 LeuGluLeuThrIleLysLeuAspSerGluGluGlnGlnArgThrLeuLeuAsnAsnSerIleLeuSerLysLysGlyLys  
 3290      3300      3310      3320      3330      3340      3350      3360  
 AGAAGAATTAAAACGATTATTTGATAAATATAATGCCTTGTGGCAAAGTTGGGAGAAATCAGGTCCGTTCATAGAAAAATTA  
 GluGluLeuLysArgLeuPheAspLysTyrAsnAlaLeuTrpGlnSerTrpGluAsnGlnValGlyHisArgLysIle  
 3370      3380      3390      3400      3410      3420      3430      3440  
 GGCCACACAAAATAGCAACTGGTACGGTGAAACCCACACCTCAGAAACAGTATCATATTAATCCAAAAGCAAAGCCTGAT  
 ArgProHisLysIleAlaThrGlyThrValLysProThrProGlnLysGlnTyrHisIleAsnProLysAlaLysProAsp  
 3450      3460      3470      3480      3490      3500      3510      3520  
 ATCCAGATTGTAATTAATGATTTACTAAAACAAGGGGTACTAATTCAAAAGGAAAGTACTATGAACACTCCTGTCTACCC  
 IleGlnIleValIleAsnAspLeuLeuLysGlnGlyValLeuIleGlnLysGluSerThrMetAsnThrProValTyrPro  
 3530      3540      3550      3560      3570      3580      3590      3600

## Feline spumavirus sequence

AGTGCCCAAGCCAAATGGCCGATGGAGAATGGTATTGGACTACAGAGCGGTAAATAAAGTTACACCCCTAATAGCTGTAC  
ValProLysProAsnGlyArgTrpArgMetValLeuAspTyrArgAlaValAsnLysValThrProLeuIleAlaVal

3610 3620 3630 3640 3650 3660 3670 3680  
\* \* \* \* \*  
AAAATCAACACTCGTATGGAATTATAGGAAGTCTTTTAAAGGCAAATATAAAACCACGATTGATTTATCCAATGGTTTC  
GlnAsnGlnHisSerTyrGlyIleIleGlySerLeuPheLysGlyLysTyrLysThrThrIleAspLeuSerAsnGlyPhe

3690 3700 3710 3720 3730 3740 3750 3760  
\* \* \* \* \*  
TGGGCACACCCCTATTGTCCCAGAGGATTATTGGATTACTGCATTCACTTGGCAAGGAAAACAATATTGCTGGACTGTTTT  
TrpAlaHisProIleValProGluAspTyrTrpIleThrAlaPheThrTrpGlnGlyLysGlnTyrCysTrpThrValLeu

3770 3780 3790 3800 3810 3820 3830 3840  
\* \* \* \* \*  
ACCACAAGGCTTTCTGAATAGCCCTGGGTTGTTTACTGGAGACGTTGTGGACCTCCTACAGGGGATTCCCAATGTGGAAG  
ProGlnGlyPheLeuAsnSerProGlyLeuPheThrGlyAspValValAspLeuLeuGlnGlyIleProAsnValGlu

3850 3860 3870 3880 3890 3900 3910 3920  
\* \* \* \* \*  
TCTATGTGGATGATGTATATATTAGTCATGATTCTGAAAAAGAACATTTGGAGTATCTGCATATTTTGTTTAATAGATTA  
ValTyrValAspAspValTyrIleSerHisAspSerGluLysGluHisLeuGluTyrLeuAspIleLeuPheAsnArgLeu

3930 3940 3950 3960 3970 3980 3990 4000  
\* \* \* \* \*  
AAAGAAGCAGGATATATAGTATCTCTTAAAAAATCCAATATTGCCAATCTATTGTGGATTTTCTTGGTTTTCAGATTAC  
LysGluAlaGlyTyrIleValSerLeuLysLysSerAsnIleAlaAsnSerIleValAspPheLeuGlyPheGlnIleThr

4010 4020 4030 4040 4050 4060 4070 4080  
\* \* \* \* \*  
TAATGAAGGCCGAGGCCTGCAGATACTTTTAAAGAAAAATTGGAAAAATATTACTGCCCTACCCTCTTAAACAATTAC  
AsnGluGlyArgGlyLeuThrAspThrPheLysGluLysLeuGluAsnIleThrAlaProThrThrLeuLysGlnLeu

4090 4100 4110 4120 4130 4140 4150 4160  
\* \* \* \* \*  
AAAGCATATTAGGTCTTTTAAATTTTGCCAGAAATTTTATTCCTGACTTTACTGAGCTAATTGCTCCTTTATATGCATTA  
GlnSerIleLeuGlyLeuLeuAsnPheAlaArgAsnPheIleProAspPheThrGluLeuIleAlaProLeuTyrAlaLeu

4170 4180 4190 4200 4210 4220 4230 4240  
\* \* \* \* \*  
ATACCAAAGTCTACCAAGAATTATGTTCTTGGCAAGCAGAGCATTCAACCACTCTGGAAACTTTAATTACTAAACTCAA  
IleProLysSerThrLysAsnTyrValProTrpGlnAlaGluHisSerThrThrLeuGluThrLeuIleThrLysLeuAsn

4250 4260 4270 4280 4290 4300 4310 4320  
\* \* \* \* \*  
TGGGGCAGAATATTTGCAAGGAAGAAGGGGAGATAAAGCATTGATCATGAAAGTCAATGCTAGTTATACAACAGGATATA  
GlyAlaGluTyrLeuGlnGlyArgArgGlyAspLysAlaLeuIleMetLysValAsnAlaSerTyrThrThrGlyTyr

4330 4340 4350 4360 4370 4380 4390 4400  
\* \* \* \* \*  
TAAAGTATTATAATGAAGGGGAAAAGAAGCCAATTTCTTATGTGAGTATAGTGTTCAGCAAAACTGAATTAAAATTTACT  
IleLysTyrTyrAsnGluGlyGluLysLysProIleSerTyrValSerIleValPheSerLysThrGluLeuLysPheThr

4410 4420 4430 4440 4450 4460 4470 4480  
\* \* \* \* \*  
GAACTAGAGAAATTGCTGACCACTATGCACAAGGGTCTTTTAAAGGCCCTTGGATCTATCAATGGGGCAAAACATTTATGT  
GluLeuGluLysLeuLeuThrThrMetHisLysGlyLeuLeuLysAlaLeuAspLeuSerMetGlyGlnAsnIleTyrVal

4490 4500 4510 4520 4530 4540 4550 4560  
\* \* \* \* \*  
TTATTCCTCCCATTTGTATCCATGCAAAATATTCAAAAAACACCACAAACTGCTAAAAAGGCTTTGGCCTCCAGATGGTTGA  
TyrSerProIleValSerMetGlnAsnIleGlnLysThrProGlnThrAlaLysLysAlaLeuAlaSerArgTrpLeu

4570 4580 4590 4600 4610 4620 4630 4640  
\* \* \* \* \*  
GTGGCTTTCTTATTTGGAAGATCCGAGAATTAGATTCTTTATGATCCACAGATGCTTGGCTTTAAAGGACTTGCCTGCT  
SerTrpLeuSerTyrLeuGluAspProArgIleArgPhePheTyrAspProGlnMetProAlaLeuLysAspLeuProAla

4650 4660 4670 4680 4690 4700 4710 4720  
\* \* \* \* \*

. . . . .  
 GTAGACACCAGAAAAGATAATAAAAGGCATCCTAACAATTTTCAACATATATTTTATACTGATGGATCTGCTATCACATC  
 ValAspThrArgLysAspAsnLysArgHisProAsnAsnPheGlnHisIlePheTyrThrAspGlySerAlaIleThrSer  
 4730 4740 4750 4760 4770 4780 4790 4800  
 . . . . .  
 CCCTACTAAAGAGGGACATTTGAACGCTGGAATGGGAATAGTTTATTTTATAAAATAAGATGGAGATTTACACAAGCAAC  
 ProThrLysGluGlyHisLeuAsnAlaGlyMetGlyIleValTyrPheIleAsnLysAspGlyAspLeuHisLysGln  
 4810 4820 4830 4840 4850 4860 4870 4880  
 . . . . .  
 AGGAATGGTCTATTAATTTGGGGAATCATACAGCACAATTTGCAGAAATAGCTGCTTTTGAATTCGCCCTTAAAAAATGT  
 GlnGluTrpSerIleAsnLeuGlyAsnHisThrAlaGlnPheAlaGluIleAlaAlaPheGluPheAlaLeuLysLysCys  
 4890 4900 4910 4920 4930 4940 4950 4960  
 . . . . .  
 TTACCCCTTGAGAGGAAATATCTTGTGGTACTGACAGCAATTATGTTGCAAAAGCATATAATGAGGAACTTGATGTTTG  
 LeuProLeuArgGlyAsnIleLeuValValThrAspSerAsnTyrValAlaLysAlaTyrAsnGluGluLeuAspValTrp  
 4970 4980 4990 5000 5010 5020 5030 5040  
 . . . . .  
 GGCTCTAATGGCTTTGTGAATAACAGGAAGAAACCTTTAAACATATTAGTAAATGGAAATCAGTTGCTGACTTTAAAA  
 AlaSerAsnGlyPheValAsnAsnArgLysLysProLeuLysHisIleSerLysTrpLysSerValAlaAspPheLys  
 5050 5060 5070 5080 5090 5100 5110 5120  
 . . . . .  
 AATTAAGGCCAGATGTTGTGCTGACCCATGAGCCAGGTCACCAAAACTTGACTCATCTCCTCATGCTTACGGAAATAAT  
 LysLeuArgProAspValValValThrHisGluProGlyHisGlnLysLeuAspSerSerProHisAlaTyrGlyAsnAsn  
 5130 5140 5150 5160 5170 5180 5190 5200  
 . . . . .  
 CTGGCTGATCAACTGGCCACGCAAGCCAGTTTAAAGTACATATGGCTAAAAATCCCAAGCTGGACATTGAGCAAATAAA  
 LeuAlaAspGlnLeuAlaThrGlnAlaSerPheLysValHisMetAlaLysAsnSerLysLeuAspIleGluGlnIleLys  
 5210 5220 5230 5240 5250 5260 5270 5280  
 . . . . .  
 GGCAATTCAAGCATGTCAAAATAATGAAAGGTTACCTGTTGGTTATCCAAAACAATATACATATGAGTTACAAAATGATA  
 AlaIleGlnAlaCysGlnAsnAsnGluArgLeuProValGlyTyrProLysGlnTyrThrTyrGluLeuGlnAsnAsp  
 5290 5300 5310 5320 5330 5340 5350 5360  
 . . . . .  
 AATGTATGGTTTTGAGAAAAGATGGTTGGAGGGAAATTCCTCCTTCCCGAGAGCGATACAAACTTGTTAAAGAAGCACAT  
 LysCysMetValLeuArgLysAspGlyTrpArgGluIleProProSerArgGluArgTyrLysLeuValLysGluAlaHis  
 5370 5380 5390 5400 5410 5420 5430 5440  
 . . . . .  
 GACATTAGTCATGCAGGTCGAGAAGCCGTGTTATTAATAAACAAGAAAATATTGGTGGCCAAAATGAAGAAAGATGT  
 AspIleSerHisAlaGlyArgGluAlaValLeuLeuLysIleGlnGluAsnTyrTrpTrpProLysMetLysLysAspVal  
 5450 5460 5470 5480 5490 5500 5510 5520  
 . . . . .  
 ATCATCTTTTCTTTCTACATGTAATGTATGTAAGATGGTAAATCCTTTAAATTTGAAACCTATTAGCCCTCAAACCTATTG  
 SerSerPheLeuSerThrCysAsnValCysLysMetValAsnProLeuAsnLeuLysProIleSerProGlnThrIle  
 5530 5540 5550 5560 5570 5580 5590 5600  
 . . . . .  
 TACACCCAACCAACCTTTTGATAAATTTTATATGGATTACATTGGGGCCATTGCCGCCATCAGAAGGTTATATACATATT  
 ValHisProThrLysProPheAspLysPheTyrMetAspTyrIleGlyProLeuProProSerGluGlyTyrIleHisIle  
 5610 5620 5630 5640 5650 5660 5670 5680  
 . . . . .  
 TTAGTTGTGGTAGATGCTGCCACTGGATTTACTTGGTTATACCCCAACAGGGCTCAAACCTCCAAGGCCACAATTAAAGT  
 LeuValValValAspAlaAlaThrGlyPheThrTrpLeuTyrProThrArgAlaGlnThrSerLysAlaThrIleLysVal  
 5690 5700 5710 5720 5730 5740 5750 5760  
 . . . . .  
 TCTTAATCATCTCACTGGACTTGCAATTCCAAAGGTGCTGCATTCTGATCAAGGATCAGCATTACTTCTGAAGAATTG  
 LeuAsnHisLeuThrGlyLeuAlaIleProLysValLeuHisSerAspGlnGlySerAlaPheThrSerGluGluPhe



5770 5780 5790 5800 5810 5820 5830 5840  
CTCAGTGGGCAAAGGAAAAGAATATACAATTGGAATTCAGTGCTCCTTACCACCCTCAAAGCAGTGGGAAGGTGGAAAGG  
AlaGlnTrpAlaLysGluLysAsnIleGlnLeuGluPheSerAlaProTyrHisProGlnSerSerGlyLysValGluArg

5850 5860 5870 5880 5890 5900 5910 5920  
AAAAACAGTGAAATTAAGAACTTTTAACTAAGCTCTTGGTGGGAGGCCCTTTAAAGTGGTACAACCTTATATCCAGTGT  
LysAsnSerGluIleLysLysLeuLeuThrLysLeuLeuValGlyArgProLeuLysTrpTyrAsnLeuIleSerSerVal

5930 5940 5950 5960 5970 5980 5990 6000  
GCAACTTGGCCCTAAATAACACTCATGTTGTCAGCACCAAGTATACTCCTCATCAATTAATGTTTGAATTGATTGTAATT  
GlnLeuAlaLeuAsnAsnThrHisValValSerThrLysTyrThrProHisGlnLeuMetPheGlyIleAspCysAsn

6010 6020 6030 6040 6050 6060 6070 6080  
TACCATTGCTAATAAGGATACCTTGGACTGGACAAGAGAAGAAGAACTTGCTCTCTTGCAGGAAATTCGTGAATCTTTA  
LeuProPheAlaAsnLysAspThrLeuAspTrpThrArgGluGluGluLeuAlaLeuLeuGlnGluIleArgGluSerLeu

6090 6100 6110 6120 6130 6140 6150 6160  
CAACACCCTGTGCAACCCTCCACCTCTTCTGGTTGGTCAACCATACGTTGGCCAGCTAGTCCAGGAGAGGGTGTACAGGTC  
GlnHisProValGlnProSerThrSerSerGlyTrpSerProTyrValGlyGlnLeuValGlnGluArgValTyrArgSer

6170 6180 6190 6200 6210 6220 6230 6240  
GTCACAATTAAGGCCTAAATGGAGGAAGCCTACAAAGGTCTTGAAATATTAAATCCTAGGACTGTGATTATAGTGGACC  
SerGlnLeuArgProLysTrpArgLysProThrLysValLeuGluIleLeuAsnProArgThrValIleIleValAsp

6250 6260 6270 6280 6290 6300 6310 6320  
ATCTAGGCCAACGGAAATCTGTGAGTATTGACAATTTAAACCAACAGCACATCAGCATAATGGAACAAGAACATGTGAT  
HisLeuGlyGlnArgLysSerValSerIleAspAsnLeuLysProThrAlaHisGlnHisAsnGlyThrArgThrCysAsp  
MetGluGlnGluHisValMet

6330 6340 6350 6360 6370 6380 6390 6400  
GACCTTGAAGGAATGGATGGAATGGAATGCTCACAAACAACTACAGAACTTCAGTTGACTCATCCTGAGTTACATGTTG  
AspLeuGluGlyMetAspGlyMetGluCysSerGlnThrThrThrGluThrSerValAspSerSer\*\*\*  
ThrLeuLysGluTrpMetGluTrpAsnAlaHisLysGlnLeuGlnLysLeuGlnLeuThrHisProGluLeuHisVal

6410 6420 6430 6440 6450 6460 6470 6480  
ACATACCTGAAGATATTCATTGAGTACCAGAGAAGGTACCTTTGAAAATGAGGATGCGATATAGATGTTATACTCTGTGT  
AspIleProGluAspIleHisSerValProGluLysValProLeuLysMetArgMetArgTyrArgCysTyrThrLeuCys

6490 6500 6510 6520 6530 6540 6550 6560  
GCTACTTCTACTAGAATAATGTTTTGGATACTATTCTTTCTTCTATGTTTTTCAATAGTTACTTTAAGTACAATTATAAG  
AlaThrSerThrArgIleMetPheTrpIleLeuPhePheLeuLeuCysPheSerIleValThrLeuSerThrIleIleSer

6570 6580 6590 6600 6610 6620 6630 6640  
TATTCTTAGATATCAATGGAAAGAAGCAATAACACATCCTGGCCAGTTTTTAAGTTGGCAGGTGACTAATTCACATGTAA  
IleLeuArgTyrGlnTrpLysGluAlaIleThrHisProGlyProValLeuSerTrpGlnValThrAsnSerHisVal

6650 6660 6670 6680 6690 6700 6710 6720  
CAATGGGAGGAAATACTTCCTCTTCCTCCAGACGGAGACGTGATATACAATACCACAAACTTCCCGTAGAGGTTAACATC  
ThrMetGlyGlyAsnThrSerSerSerSerArgArgArgArgAspIleGlnTyrHisLysLeuProValGlnValAsnIle

6730 6740 6750 6760 6770 6780 6790 6800  
TCAGGATCCGACAAAGTCTTTTCTTTCACCTCAACCAAAACCTATACTTCACAAAGAAAGAACTTTAGGTCTTCTCA  
SerGlyIleProGlnGlyLeuPhePheAlaProGlnProLysProIleLeuHisLysGluArgThrLeuGlyLeuSerGln

6810 6820 6830 6840 6850 6860 6870 6880

AGTGATTCTTATTGATTCCGATACTATTACTCAAGGTCATATTAAACAACAGAAAGCATATTTAGTCTCAACTATTAATG  
 ValIleLeuIleAspSerAspThrIleThrGlnGlyHisIleLysGlnGlnLysAlaTyrLeuValSerThrIleAsn  
 6890 6900 6910 6920 6930 6940 6950 6960  
 AAGAAATGGAACAATTAAAAAGACAGTATTACCTTTTGATTTACCTACCAAGGATCCTTTAACTCAAAAAGAATATATA  
 GluGluMetGluGlnLeuLysLysThrValLeuProPheAspLeuProThrLysAspProLeuThrGlnLysGluTyrIle  
 6970 6980 6990 7000 7010 7020 7030 7040  
 GAGAAGAGGTGCTTTCAACATTTTGGACATTGTTATGTTATTGAGTATGGAAGTCCTAGAAAATGGCCATTTGATGATTT  
 GluLysArgCysPheGlnHisPheGlyHisCysTyrValIleGluTyrGlySerProArgLysTrpProPheAspAspLeu  
 7050 7060 7070 7080 7090 7100 7110 7120  
 AATACAAGATCAATGCCCCCTTACCTGTGATATACAGTAATGGGCCTCGATATAGAAATCATACTATCTGGTCTTTGTATA  
 IleGlnAspGlnCysProLeuProValIleTyrSerAsnGlyProArgTyrArgAsnHisThrIleTrpSerLeuTyr  
 7130 7140 7150 7160 7170 7180 7190 7200  
 TATATCAACCTTTTTCAGTGCCCCAAAATTGGTCTAACCATATGGAGATGCCAGGATTGGAAGTTTTATGTTCCAAAG  
 IleTyrGlnProPheSerValProLysAsnTrpSerAsnProTyrGlyAspAlaArgIleGlySerPheTyrValProLys  
 7210 7220 7230 7240 7250 7260 7270 7280  
 GAATTTAAAGAGAATGCTACTCATGGAATATTCTGTTCTGACCAATTATATGGAGAATGGTATGACAGGACTTTACCTTC  
 GluPheLysGluAsnAlaThrHisGlyIlePheCysSerAspGlnLeuTyrGlyGluTrpTyrAspArgThrLeuProSer  
 7290 7300 7310 7320 7330 7340 7350 7360  
 TCAGACATTGCAAGAACTAGCAAAAACCTTTTAAATGAGGATATTATTAAAGAGAAGAAATGGAAACAAATTAAATGAAT  
 GlnThrLeuGlnGluLeuAlaLysThrPheLeuMetArgIleLeuLeuLysArgArgAsnGlyAsnLysLeuAsnGlu  
 7370 7380 7390 7400 7410 7420 7430 7440  
 CATCCTTGGCTCCTACTTTGTCTCTAAGGGACAAAAGCTCCTCTTCAGAGATTTGGTTCCATATGATAGTTGCAACATA  
 SerSerLeuAlaProThrLeuSerSerLysGlyGlnLysLeuLeuPheArgAspLeuValProTyrAspSerCysAsnIle  
 7450 7460 7470 7480 7490 7500 7510 7520  
 CCTAAAGCAGTACTTCTCTTAAACAGAACTTATTGGCCATTTTCCTTGTGGGAAGGCGATTGTGGGATATTTTCAGACAAA  
 ProLysAlaValLeuLeuLeuAsnArgThrTyrTrpProPheSerLeuTrpGluGlyAspCysGlyIlePheGlnThrAsn  
 7530 7540 7550 7560 7570 7580 7590 7600  
 TATCACAGAACATGCTAGCTGTAAGAAGTTCAATCGAACTCAGACTTCGCATCCTTATGCTTGCACTTTCTGGAGACAAT  
 IleThrGluHisAlaSerCysLysLysPheAsnArgThrGlnThrSerHisProTyrAlaCysThrPheTrpArgGln  
 7610 7620 7630 7640 7650 7660 7670 7680  
 ATTTAGGAAATGCCTCAATAAAATGCGTGGATGACTCAGCAGCATGTTATTATAGTCTGCTTACACAGGAGTTGAAAT  
 TyrLeuGlyAsnAlaSerIleLysCysValAspAspSerAlaArgCysTyrTyrSerProAlaTyrThrGlyValGluAsn  
 7690 7700 7710 7720 7730 7740 7750 7760  
 AGGGAAGATTTTGGATGGCAAGCATATAATGACAATTTCCCTCACCTGTATGTATTAAGAGATACCAATTATTAATAA  
 ArgGluAspPheGlyTrpGlnAlaTyrAsnAspAsnPheProSerProValCysIleLysGluIleProIleIleLysLys  
 7770 7780 7790 7800 7810 7820 7830 7840  
 GAATTATAAAGTATCCTCTGTCTAGCTGAATGCATAAATAAGGCAAAACAATATGGAATCAAAGAAGTAATAGATAAAT  
 AsnTyrLysValSerSerValLeuAlaGluCysIleAsnLysAlaLysGlnTyrGlyIleLysGluValIleAspLys  
 7850 7860 7870 7880 7890 7900 7910 7920  
 TGGAAAATTTGTTCTCTACCAAGCATGTGTTGCCTGAAGATACTTTTAAACCTTATAATAATTTTACATGGCCTAAATAT  
 LeuGluAsnLeuPheSerThrLysHisValLeuProGluAspThrPheLysProTyrAsnAsnPheThrTrpProLysTyr  
 7930 7940 7950 7960 7970 7980 7990 8000

```

      *      *      *      *      *      *      *
GAAAAACAAAATAAACAAACAAAAACCTCTTGTGAAGGAAGCAAAAACAAAAGACAAAGAAGGTCCGTAAGTACAGAAAA
GluLysGlnAsnLysGlnGlnLysThrSerCysGluGlySerLysAsnLysArgGlnArgArgSerValSerThrGluAsn

      8010      8020      8030      8040      8050      8060      8070      8080
      *      *      *      *      *      *      *
CCTAAGAAGAATGCAAGAGGCAGGCTTAGGCCTGGCCAATGCAATTACCACTGTGGCCAAGATTCTGACCTGAATGATC
LeuArgArgMetGlnGluAlaGlyLeuGlyLeuAlaAsnAlaIleThrThrValAlaLysIleSerAspLeuAsnAsp

      8090      8100      8110      8120      8130      8140      8150      8160
      *      *      *      *      *      *      *
AGAAATTAGCCAAGGGAGTACATTTGCTTAGAGATCATGTTGTCACCTCTAATGGAAGCCAATTGGATGATATTGTGTCC
GlnLysLeuAlaLysGlyValHisLeuLeuArgAspHisValValThrLeuMetGluAlaAsnLeuAspAspIleValSer

      8170      8180      8190      8200      8210      8220      8230      8240
      *      *      *      *      *      *      *
CTAGGAGAGGGAATACAAATAGAACATATACACAATCACTTAACCTCTTTGAAATTGCTTACCTTGGAAAATAGAATTGA
LeuGlyGluGlyIleGlnIleGluHisIleHisAsnHisLeuThrSerLeuLysLeuLeuThrLeuGluAsnArgIleAsp

      8250      8260      8270      8280      8290      8300      8310      8320
      *      *      *      *      *      *      *
CTGGAGGTTTATAAATGACTCATGGATTGAGGAAGAATTAGGTGTTTCAGACAATATAATGAAAGTAATAAGGAAAACCTG
TrpArgPheIleAsnAspSerTrpIleGlnGluGluLeuGlyValSerAspAsnIleMetLysValIleArgLysThr

      8330      8340      8350      8360      8370      8380      8390      8400
      *      *      *      *      *      *      *
CAAGGTGTATTCCTTACAATGTCAAACAAACAAGGAATCTAAACACTTCTACTGCATGGGAAATATATTTATATTATGAG
AlaArgCysIleProTyrAsnValLysGlnThrArgAsnLeuAsnThrSerThrAlaTrpGluIleTyrLeuTyrTyrGlu

      8410      8420      8430      8440      8450      8460      8470      8480
      *      *      *      *      *      *      *
ATTATCATTCCTACCACTATATATACACAGAATTGGAATATAAAGAATCTAGGTCACCTTGTAAGGAATGCAGGATATTT
IleIleIleProThrThrIleTyrThrGlnAsnTrpAsnIleLysAsnLeuGlyHisLeuValArgAsnAlaGlyTyrLeu

      8490      8500      8510      8520      8530      8540      8550      8560
      *      *      *      *      *      *      *
GTCTAAGGTGTGGATCCAACAACCATTTGAAGTATTAAACCAGGAATGTGGAACAAATATATATTTACATATGGAAGAAT
SerLysValTrpIleGlnGlnProPheGluValLeuAsnGlnGluCysGlyThrAsnIleTyrLeuHisMetGluGlu

      8570      8580      8590      8600      8610      8620      8630      8640
      *      *      *      *      *      *      *
GTGTTGACCAAGACTATATAATATGTGAAGAAGTAATAGAATTTCTCTCTTGTGGAAATGGAAGTGGTTTCAGACTGCCCA
CysValAspGlnAspTyrIleIleCysGluGluValIleGluPheProProCysGlyAsnGlyThrGlySerAspCysPro

      8650      8660      8670      8680      8690      8700      8710      8720
      *      *      *      *      *      *      *
GTGCTAACTAAACCTCTTACAGATGAATACTTGGAATTTGAACCCCTGAAGAATGGGAGCTATTGGTTTATCAAGTAC
ValLeuThrLysProLeuThrAspGluTyrLeuGluIleGluProLeuLysAsnGlySerTyrLeuValLeuSerSerThr

      8730      8740      8750      8760      8770      8780      8790      8800
      *      *      *      *      *      *      *
TACAGACTGTGGCATAACAGCTTACGTGCCTGTGGTTATAACAGTGAATGACACAATCAGCTGTTTTGATAAAGAGTTTA
ThrAspCysGlyIleProAlaTyrValProValValIleThrValAsnAspThrIleSerCysPheAspLysGluPhe

      8810      8820      8830      8840      8850      8860      8870      8880
      *      *      *      *      *      *      *
AAAGGCCACTTAAACAGGAACCTAAGAGTAACAAAATATGCACCATCTGTTCCCTCAATTGGAACCTAAGAGTTCCTCGGCTA
LysArgProLeuLysGlnGluLeuArgValThrLysTyrAlaProSerValProGlnLeuGluLeuArgValProArgLeu

      8890      8900      8910      8920      8930      8940      8950      8960
      *      *      *      *      *      *      *
ACAAGCTTGATTGCAAAAATAAAAGGAATTCAAATAGAAATCACTAGCAGCTGGGAAACTATAAAAGAGCAAGTTGCAAG
ThrSerLeuIleAlaLysIleLysGlyIleGlnIleGluIleThrSerSerTrpGluThrIleLysGluGlnValAlaArg

      8970      8980      8990      9000      9010      9020      9030      9040
      *      *      *      *      *      *      *
AGCTAAGGCAGAGCTTCTACGCTTGGACCTTCACGAAGGAGACTATCCAGAGTGGCTGCAGCTCCTTGGAGAAGCAACTA
AlaLysAlaGluLeuLeuArgLeuAspLeuHisGluGlyAspTyrProGluTrpLeuGlnLeuLeuGlyGluAlaThr

```

9050 9060 9070 9080 9090 9100 9110 9120  
 AAGACGTTTGGCCTGCAATCTCCAACTTCGTTTCTGGAGTAGGTAATTTTCATAAAGGACACTGCTGGAGGTATTTTGGGA  
 LysAspValTrpProAlaIleSerAsnPheValSerGlyValGlyAsnPheIleLysAspThrAlaGlyGlyIlePheGly  
 9130 9140 9150 9160 9170 9180 9190 9200  
 ACTGCCTTTAGTTTCTGGGATATGTAAACCTGTACTGTTGGGATTCTGTGATCATATTTTGCATAATTTTGATTATAAA  
 ThrAlaPheSerPheLeuGlyTyrValLysProValLeuLeuGlyPheValIleIlePheCysIleIleLeuIleIleLys  
 9210 9220 9230 9240 9250 9260 9270 9280  
 GATCATAGGATGGCTGCAAAATACCCGGAAGAAGGACCAATAACTGAGGGGGTTGAAGAAGATTTAACTCTCACTCCAC  
 IleIleGlyTrpLeuGlnAsnThrArgLysLysAspGln\*\*\*  
 orf1 MetAlaAlaLysTyrProGluGluGlyProIleThrGluGlyValGluGluAspPheAsnSerHisSerThr  
 9290 9300 9310 9320 9330 9340 9350 9360  
 TTCTGGTTTGGACCTTACCTCAGGTAATAAAGAAGAACCTTTGATTTCTTTAGCCCTTTTGTCTATGCACACCAGTAAAA  
 SerGlyLeuAspLeuThrSerGlyAsnLysGluGluProLeuIleSerLeuAlaLeuLeuSerMetHisThrSerLys  
 9370 9380 9390 9400 9410 9420 9430 9440  
 CTGTTATTGGATAAGGATCACTTTTTGTAAAAATATTATCCTTTGGAGGGAAGCAAAAGTTGTATTATATATGCAAC  
 ThrValIleTrpIleArgAspHisPhePheValLysIleLeuSerPheGlyGlyLysGlnLysLeuTyrTyrIleCysAsn  
 9450 9460 9470 9480 9490 9500 9510 9520  
 CAATGTCATAAAGGAATTCCTGAAAGTGGATATATAGTTCTCAATACTAAATATTATCTATATGAGAAAGGACCTATTGA  
 GlnCysHisLysGlyIleProGluSerGlyTyrIleValLeuAsnThrLysTyrTyrLeuTyrGluLysGlyProIleGlu  
 9530 9540 9550 9560 9570 9580 9590 9600  
 GACTGGTACCAAAGGTCTAACTCTTATGAGAAGGCATGTGCAAAATTCCCTTGTTCCTGAACAGTCGGAAGAATCCG  
 ThrGlyThrLysGlyLeuThrLeuMetArgArgHisValGlnAsnSerProCysPheLeuAsnSerArgLysGluSer  
 9610 9620 9630 9640 9650 9660 9670 9680  
 GACCACCAAGACGATCCTACTCGTCCTGCAACATCTTATAGCCTATGCCGAAGCGACTATCAAGAAGCGGGATGTTCC  
 GlyProProLysThrAspProThrArgProAlaThrSerTyrSerLeuCysArgSerAspTyrGlnGluAlaGlyCysSer  
 9690 9700 9710 9720 9730 9740 9750 9760  
 CCGCCCACTCCTTCCAATTCTGAGTCCGTATGTAATGGCTTGGGACAACCTCAGAACGTGGTCACACGTCTGGTGAATC  
 ArgProThrProSerAsnSerGluSerValCysAsnGlyLeuGlyGlnProSerGluArgGlyHisThrSerGlyGluSer  
 orf2 MetAlaTrpAspAsnProGlnAsnValValThrArgLeuValAsn  
 9770 9780 9790 9800 9810 9820 9830 9840  
 TGGGGCAACCATGGAAGAAGTATCTTTGTCTCCTGCTTGGAAAGGATTGTGGGGAGACGGATTGACTATGCTAACTAGA  
 GlyGlyThrMetGluGluValSerPheValSerTrpLeuGluGlyLeuTrpGlyGluGlyPheAspTyrAlaAsn\*\*\*  
 LeuGlyGluProTrpLysLysTyrLeuLeuSerProGlyTrpLysAspCysGlyGluArgAspLeuThrMetLeuThrArg  
 9850 9860 9870 9880 9890 9900 9910 9920  
 GAATTGTTGGTACCACGAATAGGCTGTGACCAAGTCGCCGTTACAACCTATTGAAACCTATGTGTTAATGTGTAGTGGGCG  
 GluLeuLeuValProGlyIleGlyLeuValGlnValAlaValThrThrIleGluThrTyrValLeuMetCysSerGlyArg  
 9930 9940 9950 9960 9970 9980 9990 10000  
 ATGTATTACAGGTTCTAGAACCGACCCAGATTGTGATCCTTTGTTCTGTAAACTGTTATGTTGAAACAAAATATACAAG  
 CysIleThrGlySerArgThrAspProAspCysAspProLeuPheCysLysLeuLeuCysTrpLysGlnAsnIleGln  
 10010 10020 10030 10040 10050 10060 10070 10080  
 ACCGTAGAGAATGTAACCTAGAAAATTGGTGTCTATATAGCCTTGACCCTGAACATGATCCCTTTGGGATCCAAAAATA  
 AspProArgGluCysAsnLeuGluAsnTrpCysLeuTyrSerLeuAspProGluHisAspProLeuTrpAspProLysIle  
 10090 10100 10110 10120 10130 10140 10150 10160

ACTGTTTCGTAGACATAGAAATCTTTTACCCTATTGTATGAGACCTTTTCTCATCTGGATGAATTATATTTCTCATAATCC  
 ThrValArgArgHisArgAsnLeuLeuProTyrCysMetArgProPheLeuIleTrpMetAsnTyrIleSerHisAsnPro  
 10170 10180 10190 10200 10210 10220 10230 10240  
 TCTTACACAGCAGTGTATTATGATGAAAACCTTTGAATATGCTTTGGAGAGCACAAGCCGATGATCCAAGTGATGTTGCTT  
 LeuThrGlnGlnCysIleMetMetLysThrLeuAsnMetLeuTrpArgAlaGlnAlaAspAspProSerAspValAla  
 10250 10260 10270 10280 10290 10300 10310 10320  
 CCCTGCATCCCAGAGTCAAAGTTTTTAAGGCATCTCATTGATATATTGGAAGTGCCTCTGGGAACAGGGAGGAGAGG  
 SerLeuHisProArgValLysValPheLysAlaSerHisPheAspIlePheGlySerAlaSerGlyAsnArgGluGluArg  
 10330 10340 10350 10360 10370 10380 10390 10400  
 GTGTCATGGGCCAAAGAGAATTCTCACAGAGGAGAATACTCTCTGCTGCCATCTAGTGACGATGAGGAAGAAGAAATGTC  
 ValSerTrpAlaLysGluAsnSerHisArgGlyGluTyrSerLeuLeuProSerSerAspAspGluGluGluGluMetSer  
 10410 10420 10430 10440 10450 10460 10470 10480  
 AGAAAGAGAGGAATTATTGTGCCATATAAATCAGTGTCAACAAAAGCTCTTTTATCCCGAGGGACCACTGATGTCCTTG  
 GluArgGluGluLeuLeuCysHisIleAsnGlnCysGlnGlnLysLeuPheTyrProGlyGlyThrThrAspValLeu  
 10490 10500 10510 10520 10530 10540 10550 10560  
 GAATGGAGAGCAATAATTGGCTTACTAAATTTGGTATTAACAAATTTCTTAAAGGAACAAAAGTGATACTTCCTGACGGA  
 GlyMetGluSerAsnAsnTrpLeuThrLysPheGlyIleAsnLysPheProLysGlyThrLysValIleLeuProAspGly  
 10570 10580 10590 10600 10610 10620 10630 10640  
 AGAAAATTTATAGCCTGTGATCCTGAATTAAAACCATCATTGCAGGAGCTAAAGTTCTTGGATAGGGCAACATCTGAGTC  
 ArgLysPheIleAlaCysAspProGluLeuLysProSerLeuGlnGluLeuLysPheLeuAspArgAlaThrSerGluSer  
 10650 10660 10670 10680 10690 10700 10710 10720  
 ATCTGACTCTGAATAGAAAGCCCGAATTTACCTGGATTGTGCAACTTTGTCCGAGGTGGCAGAGTGGTTATGTATCTGTC  
 SerAspSerGlu\*\*\*  
 10730 10740 10750 10760 10770 10780 10790 10800  
 ATACTCGGGGAAAGTTTTGCCTTTACATGTTCAAGACATATAAAGGGTAGAAAAATATATTCCTGACTAAACTTCCTGGG  
 10810 10820 10830 10840 10850 10860 10870 10880  
 GACTAGAGGTGTGGAACTTTGCTGCCTCTGCTTCTCGGGAAGTTTTGGTTTGAATCCTCTTTTAGGTACTTAGTTAAG  
 10890 10900 10910 10920 10930 10940 10950 10960  
 ATAAGTAGTGAATAAATTACTCTCGTTCATGTATTCATATCGAAACCATGTATTCTTTAGTCATTTAGATACTTAGGGTA  
 10970 10980 10990 11000 11010 11020 11030 11040  
 TCAGAAAAGAACTGTAATGGTAACTATCAATGTTAGTAAACAAAGTATAGCTTAATCATCTGATGATGTCACGAGAAGA  
 11050 11060 11070 11080 11090 11100 11110 11120  
 GGACCTAGAAGAGAAGAACAACCTTTCGGCATGTAACAGAGCGGGAGCTTGGTGTAGGAGCTAAGTCACCGTCTTACATCT  
 11130 11140 11150 11160 11170 11180 11190 11200  
 AGAGCCTACTCTCTTGAAGTGTTCGAATCCTATTTTGGAACTCTTACATCACCTTTAAGAGACTGAAAAACGTGACTC  
 11210 11220 11230 11240 11250 11260 11270 11280  
 GTACACAGGAAGCTCCTTTAGGGTAGAGGAAATGTTCTAATCTCCTATCTTAAAGGGTTGCTTCATTTAAGGTTGGAAC  
 11290 11300 11310 11320 11330 11340 11350 11360

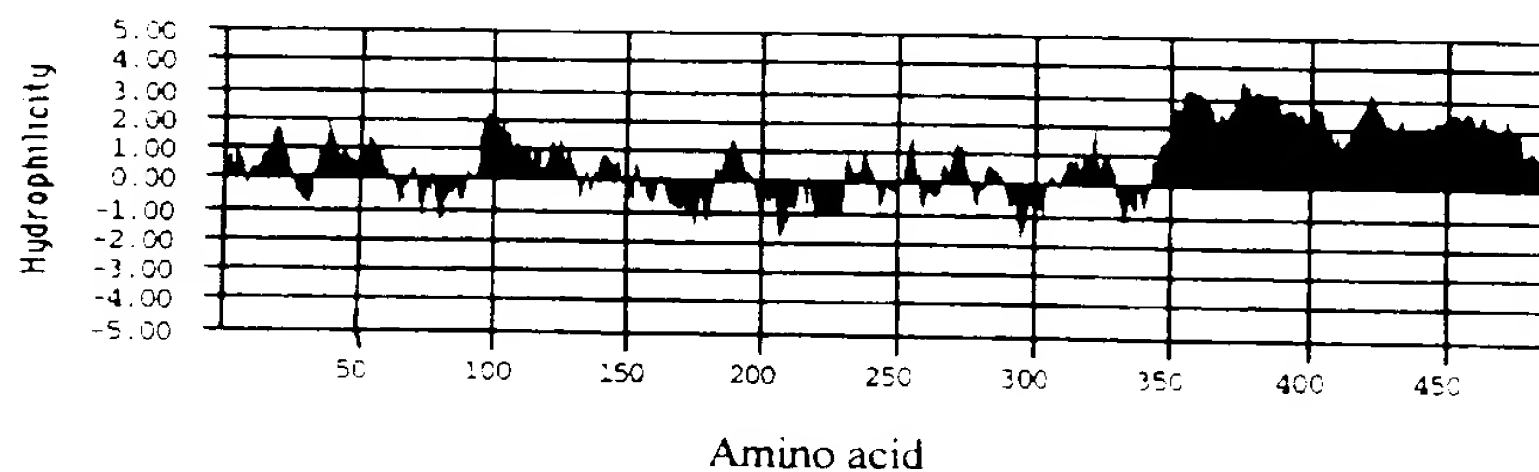
```

TGTGTACTGAAAGTAGATTTTGCATAACTTTAAACTTTTAGTTGTAIGTTTCTGACATTAGCAGCATATAAAAGGGCTAT
      11370      11380      11390      11400      11410      11420      11430      11440
GGTAGATTGTACGGGAGCTCCTCTCACAGACTTGGCTGCGTCCAGGGTGAGATTGAGACTCTCCAGCTGGGTAAGATTT
      11450      11460      11470      11480      11490      11500      11510      11520
TGATATGTATTCTGCTTGAATATTTTGCCTTGGCTCAAAGATCAAATAAATTGGATTTTCTTTCACTCAATTGAAGCTTC
      11530      11540      11550      11560      11570      11580      11590      11600
ATATAATTATATTATTGTCTGAAGCCAGAACTCACATGAGTGGTGTTCCTCTATTCTCTGGGGAAAAGTGTCTCTCTATTT
      11610      11620      11630      11640      11650
GAAAGTGTTAGAGCTACTAAATGAAGGACTAACCTATCCCAGGTATAGGCCGCGACA

```

Fig. 2. Complete nucleotide sequence of FeFV proviral DNA. The sequence starts at the 5' end of the 5'-LTR (position 1) and ends at the 3' end of the 3'-LTR (position 11657). The TATA box is shown in bold and the primer binding site (PBS), polypurine tract (PPT) and polyadenylation signal [poly(A)] are underlined.

A



B

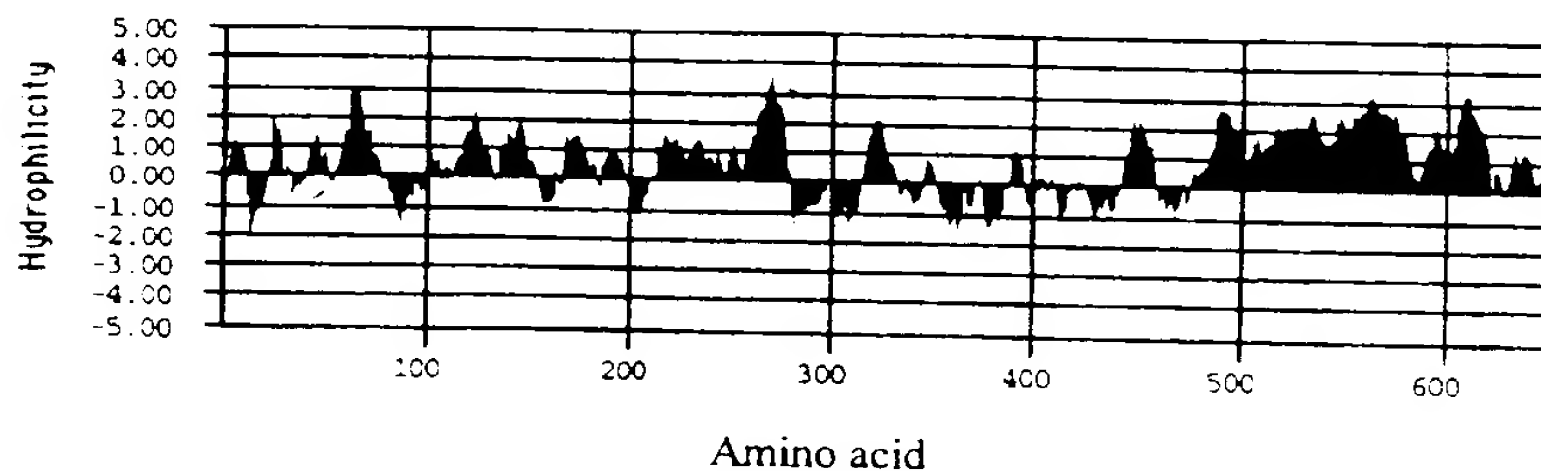


Fig. 3. Hydrophobicity plots of the Gag protein from FeFV (A) and simian spumavirus (B). The plots were generated by MacVector version 5.0 (Kodak, BI) using the Kyte-Doolittle algorithm with a window size of 10 amino acids.

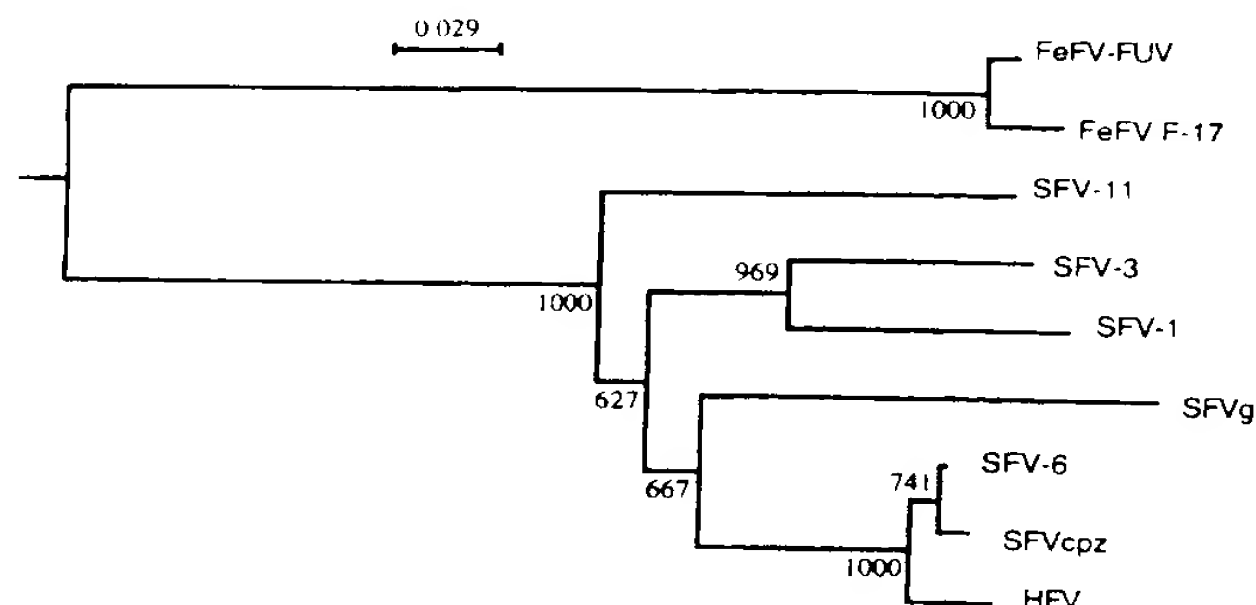


Fig. 4. Phylogeny of human, primate and feline foamy virus based on the LTR R/U5 region. Sequences were aligned using CLUSTAL W (version 1.6, EMBL) (Thompson *et al.*, 1994), and trees constructed from 1000 sets of bootstrapped data by the neighbour-joining method of Saitou & Nei (1987). Numbers at each node indicate the number of times the groups to the right of that node occurred among 1000 trees. The bar represents the mean number of differences per site.

obtained using the other sequences were similar (data not shown), although there were fewer sequences available for comparison.

This work was supported by a project grant from the Wellcome Trust.

## References

- Achong, B. G., Mansell, P. W., Epstein, M. A. & Clifford, P. (1971). An unusual virus in cultures from a human nasopharyngeal carcinoma. *Journal of the National Cancer Institute* **46**, 299-307.
- Bieniasz, P. D., Rethwilm, A., Pitman, R., Daniel, M. D., Chrystie, I. & McClure, M. O. (1995). A comparative study of higher primate foamy viruses, including a new virus from a gorilla. *Virology* **207**, 217-228.
- Bodem, J., Lochelt, M., Winkler, I., Flower, R. P., Delius, H. & Flugel, R. M. (1996). Characterization of the spliced *pol* transcript of feline foamy virus: the splice acceptor site of the *pol* transcript is located in *gag* of foamy viruses. *Journal of Virology* **70**, 9024-9027.
- Flanagan, M. (1992). Isolation of a spumavirus from a sheep. *Australian Veterinary Journal* **69**, 112-113.
- Harbour, D. A., Howard, P. E. & Gaskell, R. M. (1991). Isolation of feline calicivirus and feline herpesvirus from domestic cats 1980-1989. *Veterinary Record* **128**, 77-80.
- He, F., Sun, J. D., Garrett, E. D. & Cullen, B. R. (1993). Functional organization of the Bel-1 trans activator of human foamy virus. *Journal of Virology* **67**, 1896-1904.
- Herchenroder, O., Renne, R., Loncar, D., Cobb, E. K., Murthy, K. K., Schneider, J., Mergia, A. & Luciw, P. A. (1994). Isolation, cloning, and sequencing of simian foamy viruses from chimpanzees (SFVcpz): high homology to human foamy virus (HFV). *Virology* **201**, 187-199.
- Hooks, J. J. & Gibbs, C. J. (1975). The foamy viruses. *Bacteriological Reviews* **39**, 169-185.
- Hruska, J. F. & Takemoto, K. K. (1975). Biochemical properties of a hamster syncytium-forming foamy virus. *Journal of the National Cancer Institute* **54**, 601-605.
- Kasza, L., Hayward, A. H. S. & Betts, A. O. (1969). Isolation of a virus from a cat sarcoma in an established canine melanoma cell line. *Research in Veterinary Science* **10**, 216-218.
- Keller, A., Garrett, E. D. & Cullen, B. R. (1992). The Bel-1 protein of human foamy virus activates human immunodeficiency virus type 1 gene expression via a novel DNA target site. *Journal of Virology* **66**, 3946-3949.
- Kennedy-Stoskopf, S., Stoskopf, M. K., Eckhaus, M. A. & Strandberg, J. D. (1986). Isolation of a retrovirus and a herpesvirus from a captive Californian sea lion. *Journal of Wildlife Disease* **22**, 156-164.
- Kupiec, J. J., Kay, A., Hayat, M., Ravier, R., Peries, J. & Galibert, F. (1991). Sequence analysis of the simian foamy virus type 1 genome. *Gene* **101**, 185-194.
- Lee, A. H., Lee, K. J., Kim, S. & Sung, Y. C. (1992). Transactivation of human immunodeficiency virus type 1 long terminal repeat-directed gene expression by the human foamy virus *bel* 1 protein requires a specific DNA sequence. *Journal of Virology* **66**, 3236-3240.
- Lieber, M. M., Benveniste, R. E., Sherr, C. J. & Todaro, G. J. (1975). Isolation of type C virus (FS-1) from the European Wildcat (*Felis sylvestris*). *Virology* **66**, 117-127.
- Lochelt, M. & Flugel, R. M. (1996). The human foamy virus *pol* gene is expressed as a Pro-Pol polyprotein and not as a Gag-Pol fusion protein. *Journal of Virology* **70**, 1033-1040.
- Malmquist, W. A., van der Maaten, M. J. & Boothe, A. D. (1969). Isolation, immunodiffusion, immunofluorescence, and electron microscopy of a syncytial virus of lymphosarcomatous and apparently normal cattle. *Cancer Research* **29**, 188-200.
- Maurer, B. & Flugel, R. M. (1988). Genomic organization of the human spumaretrovirus and its relatedness to AIDS and other retroviruses. *AIDS Research And Human Retroviruses* **4**, 467-473.
- Maurer, B., Bannert, H., Darai, G. & Flugel, R. M. (1988). Analysis of the primary structure of the long terminal repeat and the *gag* and *pol* genes of the human spumaretrovirus. *Journal of Virology* **62**, 1590-1597.
- Mergia, A., Pratt-Lowe, E., Shaw, K. E., Renshaw-Gegg, L. W. & Luciw, P. A. (1992). Cis-acting regulatory regions in the long terminal repeat of simian foamy virus type 1. *Journal of Virology* **66**, 251-257.
- Morozov, V. A., Copeland, T. D., Nagashima, K., Gonda, M. A. & Oroszian, S. (1997). Protein composition and morphology of human foamy virus intracellular cores and extracellular particles. *Virology* **228**, 307-317.
- Pedersen, N. C., Pool, R. R. & O'Brien, T. (1980). Feline chronic progressive polyarthritis. *American Journal of Veterinary Research* **41**, 522-535.
- Renne, R., Friedl, E., Schweizer, M., Fleps, U., Turek, R. & Neumann-

- Haefelin, D. (1992). Genomic organization and expression of simian foamy virus type 3 (SFV-3). *Virology* **186**, 597-608.
- Rethwilm, A., Darai, G., Rosen, A., Maurer, B. & Flugel, R. M. (1987). Molecular cloning of the genome of human spumaretrovirus. *Gene* **59**, 19-28.
- Rethwilm, A., Mori, K., Maurer, B. & ter Meulen, V. (1990). Transacting transcriptional activation of human spumaretrovirus LTR in infected cells. *Virology* **175**, 568-571.
- Riggs, J. L., Oshiro, L. S., Taylor, D. O. N. & Lennette, E. H. (1969). Syncytium-forming agent isolated from domestic cats. *Nature* **222**, 1190-1191.
- Russell, D. W. & Miller, A. D. (1996). Foamy virus vectors. *Journal of Virology* **70**, 217-222.
- Saitou, N. & Nei, M. (1987). The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* **4**, 406-425.
- Thompson, J. D., Higgins, D. G. & Gibson, T. J. (1994). CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, positions-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research* **22**, 4673-4680.
- Varmus, H. (1988). Retroviruses. *Science* **240**, 1427-1435.
- Venkatesh, L. K., Theodorakis, P. A. & Chinnadurai, G. (1991). Distinct cis-acting regions in U3 regulate trans-activation of the human spumaretrovirus long terminal repeat by the viral bel-1 gene product. *Nucleic Acids Research* **19**, 3661-3666.
- Yoshinaka, Y., Katoh, I., Copeland, T. D. & Oroszlan, S. (1985). Murine leukemia virus protease is encoded by the gag-pol gene and is synthesized through suppression of an amber termination codon. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* **82**, 1618-1622.
- Yu, S. F., Baldwin, D. N., Gwynn, S. R., Yendapalli, S. & Linial, M. L. (1996a). Human foamy virus replication: a pathway distinct from that of retroviruses and hepadnaviruses. *Science* **271**, 1579-1582.
- Yu, S. F., Edelmann, K., Strong, R. K., Moebes, A., Rethwilm, A. & Linial, M. L. (1996b). The carboxyl terminus of the human foamy virus Gag protein contains separable nucleic acid binding and nuclear transport domains. *Journal of Virology* **70**, 8255-8262.

Received 9 April 1997, Accepted 3 June 1997



PCT

## ANTRAG

Der Unterzeichnete beantragt, daß die vorliegende internationale Anmeldung nach dem Vertrag über die internationale Zusammenarbeit auf dem Gebiet des Patentwesens behandelt wird.

Vom Anmeldeamt auszufüllen

Internationales Aktenzeichen

Internationales Anmeldedatum

Name des Anmeldeamts und "PCT International Application"

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts (falls gewünscht)  
(max. 12 Zeichen) **K 2769 - sch/msl**

## Feld Nr. I BEZEICHNUNG DER ERFINDUNG

FV-Vektoren zur Expression von Fremdgenen in Säugern und deren Verwendung

## Feld Nr. II ANMELDER

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

Deutsches Krebsforschungszentrum  
Stiftung des öffentlichen Rechts  
Im Neuenheimer Feld 280  
D-69120 Heidelberg  
DE

☐ Diese Person ist  
gleichzeitig Erfinder

Telefonnr.:

Telefaxnr.:

Fernschreibnr.:

Staatsangehörigkeit (Staat):

DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

DE

Diese Person ist Anmelder  
für folgende Staaten:

☐

alle Bestimmungsstaaten

☒

alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika

☐

nur die Vereinigten Staaten von Amerika

☐

die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

## Feld Nr. III WEITERE ANMELDER UND/ODER (WEITERE) ERFINDER

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

FLÜGEL, Rolf-M.  
Herrmann-Brunn-Straße 43  
D-69198 Schriesheim  
DE

Diese Person ist:

☐ nur Anmelder

☒ Anmelder und Erfinder

☐ nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Staatsangehörigkeit (Staat):

DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

DE

Diese Person ist Anmelder  
für folgende Staaten:

☐

alle Bestimmungsstaaten

☐

alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika

☒

nur die Vereinigten Staaten von Amerika

☐

die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

☒ Weitere Anmelder und/oder (weitere) Erfinder sind auf einem Fortsetzungsblatt angegeben.

## Feld Nr. IV ANWALT ODER GEMEINSAMER VERTRETER; ODER ZUSTELLANSCHRIFT

Die folgende Person wird hiermit bestellt/ist bestellt worden, um für den (die) Anmelder vor den zuständigen internationalen Behörden in folgender Eigenschaft zu handeln als:

☒

Anwalt

☐

gemeinsamer Vertreter

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.)

SCHÜBLER, Andrea  
Truderinger Str. 246  
D-81825 München

**HUBER & SCHÜSSLER**  
Patentanwälte · Patent Attorneys  
Truderinger Straße 246 · 81825 München  
Tel. 089/42 72 47 48 · Fax 089/42 72 47 49

Telefonnr.:

089/42724748

Telefaxnr.:

089/42724749

Fernschreibnr.:

☐ **Zustellanschrift:** Dieses Kästchen ist anzukreuzen, wenn kein Anwalt oder gemeinsamer Vertreter bestellt ist und statt dessen im obigen Feld eine spezielle Zustellanschrift angegeben ist.



## Fortsetzung von Feld Nr. III WEITERE ANMELDER UND/ODER (WEITERE) ERFINDER

*Wird keines der folgenden Felder benutzt, so sollte dieses Blatt dem Antrag nicht beigelegt werden.*

Name und Anschrift: (Familiennamen, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

LÖCHELT, Martin  
Hermann-Löns-Weg. 83  
D-69207 Sandhausen

DE

Diese Person ist:

- ☐ nur Anmelder  
☒ Anmelder und Erfinder  
☐ nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Staatsangehörigkeit (Staat):

DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

DE

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

☐

alle Bestimmungsstaaten

☐

alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika

☒

nur die Vereinigten Staaten von Amerika

☐

die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

Name und Anschrift: (Familiennamen, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

FLOWER, Robert  
Royal North Shore Hospital  
Gore Hill NSW 2065

AU

Diese Person ist:

- ☐ nur Anmelder  
☒ Anmelder und Erfinder  
☐ nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Staatsangehörigkeit (Staat):

AU

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

AU

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

☐

alle Bestimmungsstaaten

☐

alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika

☒

nur die Vereinigten Staaten von Amerika

☐

die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

Name und Anschrift: (Familiennamen, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

WINKLER, Ingrid  
167 Stephen Terrace  
Walkerville SA 5081

AU

Diese Person ist:

- ☐ nur Anmelder  
☒ Anmelder und Erfinder  
☐ nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Staatsangehörigkeit (Staat):

AU

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

AU

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

☐

alle Bestimmungsstaaten

☐

alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika

☐

nur die Vereinigten Staaten von Amerika

☐

die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

Name und Anschrift: (Familiennamen, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

Diese Person ist:

- ☐ nur Anmelder  
☐ Anmelder und Erfinder  
☐ nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Staatsangehörigkeit (Staat):

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

☐

alle Bestimmungsstaaten

☐

alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika

☐

nur die Vereinigten Staaten von Amerika

☐

die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

☐ Weitere Anmelder und/oder (weitere) Erfinder sind auf einem zusätzlichen Fortsetzungsblatt angegeben.



Feld Nr. V BESTIMMUNG VON STAATEN

Die folgenden Bestimmungen nach Regel 4.9 Absatz a werden hiermit vorgenommen (bitte die entsprechenden Kästchen ankreuzen: wenigstens ein Kästchen muß angekreuzt werden):

Regionales Patent

- ☐ **AP ARIPO-Patent:** GH Ghana, GM Gambia, KE Kenia, LS Lesotho, MW Malawi, SD Sudan, SL Sierra Leone, SZ Swasiland, UG Uganda, ZW Simbabwe und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat des Harare-Protokolls und des PCT ist
- ☐ **EA Eurasisches Patent:** AM Armenien, AZ Aserbaidschan, BY Belarus, KG Kirgisistan, KZ Kasachstan, MD Republik Moldau, RU Russische Föderation, TJ Tadschikistan, TM Turkmenistan und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat des Eurasischen Patentübereinkommens und des PCT ist
- ☒ **EP Europäisches Patent:** AT Österreich, BE Belgien, CH und LI Schweiz und Liechtenstein, CY Zypern, DE Deutschland, DK Dänemark, ES Spanien, FI Finnland, FR Frankreich, GB Vereinigtes Königreich, GR Griechenland, IE Irland, IT Italien, LU Luxemburg, MC Monaco, NL Niederlande, PT Portugal, SE Schweden und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat des Europäischen Patentübereinkommens und des PCT ist
- ☐ **OA OAPI-Patent:** BF Burkina Faso, BJ Benin, CF Zentralafrikanische Republik, CG Kongo, CI Côte d'Ivoire, CM Kamerun, GA Gabun, GN Guinea, GW Guinea-Bissau, ML Mali, MR Mauretanien, NE Niger, SN Senegal, TD Tschad, TG Togo und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat der OAPI und des PCT ist (falls eine andere Schutzrechtsart oder ein sonstiges Verfahren gewünscht wird, bitte auf der gepunkteten Linie angeben): .....

Nationales Patent (falls eine andere Schutzrechtsart oder ein sonstiges Verfahren gewünscht wird, bitte auf der gepunkteten Linie angeben):

- |                                                               |                                                                             |
|---------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|
| <input type="checkbox"/> AE Vereinigte Arabische Emirate      | <input type="checkbox"/> LR Liberia                                         |
| <input type="checkbox"/> AL Albanien                          | <input type="checkbox"/> LS Lesotho                                         |
| <input type="checkbox"/> AM Armenien                          | <input type="checkbox"/> LT Litauen                                         |
| <input type="checkbox"/> AT Österreich                        | <input type="checkbox"/> LU Luxemburg                                       |
| <input checked="" type="checkbox"/> AU Australien             | <input type="checkbox"/> LV Lettland                                        |
| <input type="checkbox"/> AZ Aserbaidschan                     | <input type="checkbox"/> MD Republik Moldau                                 |
| <input type="checkbox"/> BA Bosnien-Herzegowina               | <input type="checkbox"/> MG Madagaskar                                      |
| <input type="checkbox"/> BB Barbados                          | <input type="checkbox"/> MK Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien |
| <input type="checkbox"/> BG Bulgarien                         | <input type="checkbox"/> MN Mongolei                                        |
| <input type="checkbox"/> BR Brasilien                         | <input type="checkbox"/> MW Malawi                                          |
| <input type="checkbox"/> BY Belarus                           | <input type="checkbox"/> MX Mexiko                                          |
| <input type="checkbox"/> CA Kanada                            | <input type="checkbox"/> NO Norwegen                                        |
| <input type="checkbox"/> CH und LI Schweiz und Liechtenstein  | <input type="checkbox"/> NZ Neuseeland                                      |
| <input type="checkbox"/> CN China                             | <input type="checkbox"/> PL Polen                                           |
| <input type="checkbox"/> CU Kuba                              | <input type="checkbox"/> PT Portugal                                        |
| <input type="checkbox"/> CZ Tschechische Republik             | <input type="checkbox"/> RO Rumänien                                        |
| <input type="checkbox"/> DE Deutschland                       | <input type="checkbox"/> RU Russische Föderation                            |
| <input type="checkbox"/> DK Dänemark                          | <input type="checkbox"/> SD Sudan                                           |
| <input type="checkbox"/> EE Estland                           | <input type="checkbox"/> SE Schweden                                        |
| <input type="checkbox"/> ES Spanien                           | <input type="checkbox"/> SG Singapur                                        |
| <input type="checkbox"/> FI Finnland                          | <input type="checkbox"/> SI Slowenien                                       |
| <input type="checkbox"/> GB Vereinigtes Königreich            | <input type="checkbox"/> SK Slowakei                                        |
| <input type="checkbox"/> GD Grenada                           | <input type="checkbox"/> SL Sierra Leone                                    |
| <input type="checkbox"/> GE Georgien                          | <input type="checkbox"/> TJ Tadschikistan                                   |
| <input type="checkbox"/> GH Ghana                             | <input type="checkbox"/> TM Turkmenistan                                    |
| <input type="checkbox"/> GM Gambia                            | <input type="checkbox"/> TR Türkei                                          |
| <input type="checkbox"/> HR Kroatien                          | <input type="checkbox"/> TT Trinidad und Tobago                             |
| <input type="checkbox"/> HU Ungarn                            | <input type="checkbox"/> UA Ukraine                                         |
| <input type="checkbox"/> ID Indonesien                        | <input type="checkbox"/> UG Uganda                                          |
| <input type="checkbox"/> IL Israel                            | <input checked="" type="checkbox"/> US Vereinigte Staaten von Amerika       |
| <input type="checkbox"/> IN Indien                            | <input type="checkbox"/> UZ Usbekistan                                      |
| <input type="checkbox"/> IS Island                            | <input type="checkbox"/> VN Vietnam                                         |
| <input checked="" type="checkbox"/> JP Japan                  | <input type="checkbox"/> YU Jugoslawien                                     |
| <input type="checkbox"/> KE Kenia                             | <input type="checkbox"/> ZA Südafrika                                       |
| <input type="checkbox"/> KG Kirgisistan                       | <input type="checkbox"/> ZW Simbabwe                                        |
| <input type="checkbox"/> KP Demokratische Volksrepublik Korea |                                                                             |
| <input type="checkbox"/> KR Republik Korea                    |                                                                             |
| <input type="checkbox"/> KZ Kasachstan                        |                                                                             |
| <input type="checkbox"/> LC Saint Lucia                       |                                                                             |
| <input type="checkbox"/> LK Sri Lanka                         |                                                                             |

Kästchen für die Bestimmung von Staaten, die dem PCT nach der Veröffentlichung dieses Formblatts beigetreten sind:

- ☐ .....
- ☐ .....

**Erklärung bzgl. vorsorglicher Bestimmungen:** Zusätzlich zu den oben genannten Bestimmungen nimmt der Anmelder nach Regel 4.9 Absatz b auch alle anderen nach dem PCT zulässigen Bestimmungen vor mit Ausnahme der im Zusatzfeld genannten Bestimmungen, die von dieser Erklärung ausgenommen sind. Der Anmelder erklärt, daß diese zusätzlichen Bestimmungen unter dem Vorbehalt einer Bestätigung stehen und jede zusätzliche Bestimmung, die vor Ablauf von 15 Monaten ab dem Prioritätsdatum nicht bestätigt wurde, nach Ablauf dieser Frist als vom Anmelder zurückgenommen gilt. (Die Bestätigung einer Bestimmung erfolgt durch die Einreichung einer Mitteilung, in der diese Bestimmung angegeben wird, und die Zahlung der Bestimmungs- und der Bestätigungsgebühr. Die Bestätigung muß beim Anmeldeamt innerhalb der Frist von 15 Monaten eingehen.)



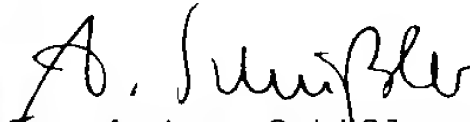
<b>Feld Nr. VI PRIORITÄTSANS</b>		<input type="checkbox"/> Weitere Prioritätsanmeldungen sind im Zusatzfeld angegeben.		
Anmeldedatum der früheren Anmeldung (Tag/Monat/Jahr)	Aktenzeichen der früheren Anmeldung	Ist die frühere Anmeldung eine:		
		nationale Anmeldung: Staat	regionale Anmeldung: regionales Amt	internationale Anmeldung: Anmeldeamt
Zeile (1) 17. Dezember 1998 (17.12.98)	198 58 441.5	DE		
Zeile (2)				
Zeile (3)				

☒ Das Anmeldeamt wird ersucht, eine beglaubigte Abschrift der oben in der (den) Zeile(n) 1 bezeichneten früheren Anmeldung(en) zu erstellen und dem internationalen Büro zu übermitteln (nur falls die frühere Anmeldung(en) bei dem Amt eingereicht worden ist(sind), das für die Zwecke dieser internationalen Anmeldung Anmeldeamt ist)

\* Falls es sich bei der früheren Anmeldung um eine ARIPO-Anmeldung handelt, so muß in dem Zusatzfeld mindestens ein Staat angegeben werden, der Mitgliedstaat der Pariser Verbandsübereinkunft zum Schutz des gewerblichen Eigentums ist und für den die frühere Anmeldung eingereicht wurde.

<b>Feld Nr. VII INTERNATIONALE RECHERCHENBEHÖRDE</b>			
<b>Wahl der internationalen Recherchenbehörde (ISA)</b> <small>(falls zwei oder mehr als zwei internationale Recherchenbehörden für die Ausführung der internationalen Recherche zuständig sind, geben Sie die von Ihnen gewählte Behörde an; der Zweibuchstaben-Code kann benutzt werden):</small> ISA: EPA	<b>Antrag auf Nutzung der Ergebnisse einer früheren Recherche; Bezugnahme auf diese frühere Recherche</b> (falls eine frühere Recherche bei der internationalen Recherchenbehörde beantragt oder von ihr durchgeführt worden ist):  Datum (Tag/Monat/Jahr)      Aktenzeichen      Staat (oder regionales Amt)		

<b>Feld Nr. VIII KONTROLLISTE: EINREICHUNGSSPRACHE</b>	
Diese internationale Anmeldung enthält die folgende Anzahl von Blättern: Antrag : 4 Beschreibung (ohne Sequenzprotokollteil) : 14 Ansprüche : 2 Zusammenfassung : 1 Zeichnungen : 7 Sequenzprotokollteil der Beschreibung : Blattzahl insgesamt : 28	Dieser internationalen Anmeldung liegen die nachstehend angekreuzten Unterlagen bei: 1. <input checked="" type="checkbox"/> Blatt für die Gebührenberechnung 2. <input type="checkbox"/> Gesonderte unterzeichnete Vollmacht 3. <input type="checkbox"/> Kopie der allgemeinen Vollmacht; Aktenzeichen (falls vorhanden): 4. <input type="checkbox"/> Begründung für das Fehlen einer Unterschrift 5. <input type="checkbox"/> Prioritätsbeleg(e), in Feld Nr. VI durch folgende Zeilennummer gekennzeichnet: 6. <input type="checkbox"/> Übersetzung der internationalen Anmeldung in die folgende Sprache: 7. <input type="checkbox"/> Gesonderte Angaben zu hinterlegten Mikroorganismen oder anderem biologischen Material 8. <input type="checkbox"/> Protokoll der Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenzen in computerlesbarer Form 9. <input checked="" type="checkbox"/> Sonstige (einzeln aufführen): Kop.f.Priobel. / Scheck
Abbildung der Zeichnungen, die mit der Zusammenfassung veröffentlicht werden soll (Nr.):	Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht wird: deutsch

<b>Feld Nr. IX UNTERSCHRIFT DES ANMELDERS ODER DES ANWALTS</b>
Der Name jeder unterzeichnenden Person ist neben der Unterschrift zu wiederholen, und es ist anzugeben, sofern sich dies nicht eindeutig aus dem Antrag ergibt, in welcher Eigenschaft die Person unterzeichnet.  München, den 17. Dezember 1999   Dr. Andrea Schüßler

Vom Anmeldeamt auszufüllen	
1. Datum des tatsächlichen Eingangs dieser internationalen Anmeldung:	2. Zeichnungen <input type="checkbox"/> eingegangen:  <input type="checkbox"/> nicht eingegangen:
3. Geändertes Eingangsdatum aufgrund nachträglich, jedoch fristgerecht eingegangener Unterlagen oder Zeichnungen zur Vervollständigung dieser internationalen Anmeldung:	
4. Datum des fristgerechten Eingangs der angeforderten Richtigstellungen nach Artikel 11(2) PCT:	
5. Internationale Recherchenbehörde (falls zwei oder mehr zuständig sind): ISA /	6. <input type="checkbox"/> Übermittlung des Recherchenexemplars bis zur Zahlung der Recherchegebühr aufgeschoben

Vom Internationalen Büro auszufüllen	
Datum des Eingangs des Aktenexemplars beim Internationalen Büro:	

